

Medizinische Fakultät
der
Universität Duisburg–Essen

Zentrum für Innere Medizin
Klinik für Kardiologie

**Ein Polymorphismus der G-Protein $\beta 3$ –Untereinheit als möglicher Risikofaktor
symptomatischer koronarer Herzkrankheit:
Assoziation des GNB3 825T–Allels mit reduzierter Belastbarkeit und vermehrtem
Auftreten pectanginöser Beschwerden beim Fahrrad–Belastungs–EKG**

Inaugural–Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades der Medizin
durch die Medizinische Fakultät
der Universität Duisburg–Essen

Vorgelegt von
Daniela Gabriele Brehm
aus Krefeld

2007

Dekan: Herr Univ.-Prof. Dr. Karl-Heinz Jöckel
1. Gutachter: Herr Priv.-Doz. Dr. Heinrich Wieneke
2. Gutachter: Herr Univ.-Prof. Dr. Winfried Siffert

Tag der mündlichen Prüfung: 24. Juni 2008

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
1.1	Die Koronare Herzkrankheit	7
1.1.1	Pathogenese atherosklerotischer Gefäßläsionen	9
1.1.2	Risikofaktoren der KHK	11
1.1.3	Diagnose der KHK	13
1.1.4	Diagnostische und prognostische Bedeutung des Belastungs-EKG	15
1.1.5	Genetische Prädisposition der KHK	16
1.2	Der GNB3-Polymorphismus C825T als kardialer Risikofaktor	18
1.2.1	Hintergrund: Funktion und Struktur von G-Proteinen	18
1.2.2	Der Gβ3 C825T-Polymorphismus	24
1.2.2.1	Beschreibung und Auswirkungen des Polymorphismus	24
1.2.2.2	Verbreitung des Polymorphismus	26
1.2.2.3	Assoziationen des C825T-Polymorphismus mit Erkrankungen und Risikofaktoren der KHK	26
1.3	Aufgabenstellung	29
2	Methoden	30
2.1	Patientenkollektiv	30
2.1.1	Auswahl und Beschreibung der Population	30
2.1.2	Patientencharakteristika	32
2.2	Genotypisierung	32
2.3	Belastungs-EKG	33
2.3.1	Indikationsstellung	33
2.3.2	Patientenvorbereitung	33
2.3.3	Durchführung der Belastungsuntersuchung	35
2.3.4	Auswertung des Belastungs-EKG	35
2.3.5	Bestimmung von Leistungsparametern	37
2.3.6	Ermittlung des Duke-Score	38
2.4	Statistische Auswertung	39

2.4.1	Datenerfassung und verwendete Software	39
2.4.2	Auswahl der statistischen Testverfahren	40
2.4.2.1	Das Verfahren nach Jonckheere-Terpstra	40
2.4.2.2	Das Verfahren von Cochran-Armitage	40
3	Ergebnisse	41
3.1.1	Überprüfung des Hardy-Weinberg-Gesetzes in der Population	41
3.1.2	Prävalenz konventioneller Risikofaktoren im Patientenkollektiv	42
3.2	Assoziation des GNB3 C825T-Polymorphismus mit Risikofaktoren der KHK	44
3.2.1	Untersuchung für arterielle Hypertonie	44
3.2.2	Untersuchung für den Body-Mass-Index (BMI)	45
3.2.3	Untersuchung für Diabetes mellitus	45
3.2.4	Untersuchung für koronare Ereignisse in der Familienanamnese	47
3.3	Assoziation mit Ergebnissen des Belastungs-EKG	48
3.3.1	Verlauf der Ergometrie: Belastungsdaten	48
3.3.2	Einnahme von Medikamenten mit möglicher Beeinflussung des Belastungsverlaufs	50
3.3.3	Assoziation mit Parametern der Leistungsfähigkeit	51
3.3.3.1	Maximalbelastung in Watt	51
3.3.3.2	Physical Work Capacity (PWC 130)	53
3.3.3.2.A	Leistung (Physical Work) bei vorgegebener Herzfrequenz	53
3.3.3.2.B	Auswertung der Subpopulation, die eine Herzfrequenz unter 130/min erreichte	54
3.3.3.2.C	PWC 130: Leistungskapazität in W/kg bei Herzfrequenz 130/min	57
3.3.3.3	Metabolisches Äquivalent (MET)	58
3.3.4	Assoziation mit Ischämiezeichen	59
3.3.4.1	Belastungsinduzierte Angina Pectoris-Beschwerden	59
3.3.4.2	Positiver Ischämie-Hinweis im EKG	60
3.3.4.3	Ischämiehinweise insgesamt: Zusammenfassung von Fällen mit Angina pectoris, positivem EKG-Befund oder beidem	61
3.3.4.4	Ausmaß der ST-Streckensenkungen	62
3.3.5	Assoziation mit dem Duke-Score	63
3.4	Ergebnisse der Koronarangiographie in einer Subpopulation	64

4	Diskussion	67
4.1	Assoziation mit vermehrter klinischer Symptomatik	67
4.2	Assoziation mit verminderter Leistungsfähigkeit	69
4.3	Assoziation mit KHK	72
4.3.1	Befunde der Koronarangiographie	72
4.3.2	Duke-Score	72
4.4	Assoziation mit Risikofaktoren der KHK	73
4.5	Diskussion der Methodik	75
4.5.1	Diskussion der untersuchungsbezogenen Risiken für die Patienten	75
4.5.2	Diskussion der statistischen Auswertung	76
4.5.2.1	Problem des multiplen Testens	77
5	Zusammenfassung	78
6	Literaturverzeichnis	79
7	Anhang	88
7.1	Übersichten: Stichprobeneigenschaften	88
8	Abkürzungsverzeichnis	90
9	Danksagung	92
10	Lebenslauf	93

1 Einleitung

1.1 Die Koronare Herzkrankheit

Die atherosklerotische koronare Herzkrankheit (KHK, engl. (hier synonym) coronary artery disease, CAD) ist die häufigste Ursache myokardialer Ischämien. Sie ist gekennzeichnet durch akute oder chronisch progrediente atherosklerotische Verengungen der (epikardialen) Koronararterien, so dass ein Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und myokardialen Sauerstoffbedarf entsteht. Eine signifikante (atherosklerotische) KHK ist koronarangiographisch definiert als $\geq 70\%$ prozentige Durchmesserstenose von mindestens einem größeren Segment der epikardialen Arterien oder als $\geq 50\%$ prozentige Durchmesserstenose des Hauptstamms der linken Kranzarterie (22).

In den Industriestaaten stellen kardiovaskuläre Erkrankungen die häufigste Todesursache dar. In Deutschland waren im Jahr 2002 KHK und Myokardinfarkt für knapp 20% der Todesfälle ursächlich, bei beiden Geschlechtern stellen ischämische Herzerkrankungen die häufigste Todesursache dar (12).

Die häufigsten klinischen Manifestationsformen der KHK sind Angina pectoris und akuter Myokardinfarkt, auch ischämieinduzierte gravierende Herzrhythmusstörungen können auftreten. Etwa 50% der Patienten werden primär durch Brustschmerzen auffällig.

Die „typische“ stabile Angina pectoris äußert sich in retrosternalen Beschwerden typischer Qualität (Druck, Enge, gegebenenfalls mit Ausstrahlung in Kiefer, linken Arm, Epigastrium) und Dauer (Minuten), die durch reproduzierbare körperliche oder emotionale Belastung provozierbar sind und durch Ruhe oder Nitroglycerin gebessert werden können (14, 27). Ihre Einteilung nach symptomfreier Belastbarkeit des Patienten gemäß der CCS-Klassifikation (9) gibt Tabelle 1 wieder (s. nächste Seite).

Instabile Angina pectoris ist definiert als neu aufgetretene oder an Häufigkeit und Intensität progrediente oder in Ruhe auftretende Beschwerden. Die Reaktion auf Nitroglycerin ist häufig verzögert, es kann eine vegetative Begleitsymptomatik bestehen, die Beschwerden halten jedoch nicht länger als 20 Minuten an (14). Ist eine instabile Angina pectoris-Symptomatik mit einer signifikanten Troponin-Erhöhung verbunden, wird dies als Non ST-elevation myocardial infarction (NSTEMI) bezeichnet (27).

Im Gegensatz zum akuten Myokardinfarkt (ST-Hebungsinfarkt, STEMI) liegen keine Erhöhungen der Herzmuskelenzyme (CK, CK-MB, LDH, GOT) und keine infarkttypischen ST-Strecken-Hebungen vor (42).

Die Klassifikation der instabilen Angina pectoris nach Braunwald (27) erfolgt nach Schweregrad und klinischen Umständen der Beschwerden (Tabelle 2, s. nächste Seite).

Das Auftreten einer instabilen Angina zeigt ein erhöhtes Risiko für kurzfristig nachfolgende schwerwiegende kardiale Ereignisse wie Myokardinfarkt oder plötzlichen Herztod an (22).

Tabelle 1: CCS-Klassifikation der (belastungsinduzierten) Angina pectoris, adaptiert nach Campeau (9)

Klasse I	Normale körperliche Aktivität wie Gehen oder Treppensteigen verursacht keine Angina. Angina tritt auf bei intensiver, schneller oder langdauernder Anstrengung durch Arbeit oder Freizeitbeschäftigung.
Klasse II	Leichte Einschränkung normaler Aktivitäten. Angina tritt bei schnellem Gehen oder Treppensteigen auf, beim Bergaufgehen, bei Belastung nach dem Essen, bei Kälte, Wind, emotionaler Belastung oder nur in den ersten Stunden nach dem Aufwachen. Angina tritt erst nach mehr als 200 m Gehen in ebenem Gelände oder einer Etage Treppensteigen in normalem Tempo auf.
Klasse III	Deutliche Einschränkung normaler Aktivitäten. Angina tritt während 100 bis 200 m Gehstrecke auf oder unter einer Etage Treppensteigen in normalem Tempo.
Klasse IV	Auftreten von Angina bei jeder körperlichen Betätigung, Gehstrecke unter 100 m, Beschwerden beim Gehen im Haus oder bei persönlicher Pflege. Symptome können auch in Ruhe vorhanden sein.

Tabelle 2: Klassifikation der instabilen Angina pectoris, modifiziert nach Dietz (14) und Hamm (27)

Klassifikation nach Braunwald		Klinische Umstände		
		Klasse A Patienten mit einer klar definierten extrakardialen Ursache der Verstärkung der kardialen Ischämie (sekundäre instabile AP)	Klasse B Patienten ohne extrakardiale Ursache der Verstärkung der Beschwerden (primäre instabile AP)	Klasse C Patienten mit instabiler AP innerhalb von zwei Wochen nach einem akuten Myokardinfarkt (postinfarzielle instabile AP)
Schweregrad	Klasse I Neu aufgetretene, schwere oder zunehmende AP; keine Beschwerden in Ruhe	IA	IB	IC
	Klasse II Ruhe-AP im letzten Monat, aber nicht in den letzten 48 Stunden (subakute Ruhe-AP)	IIA	IIB	IIC
	Klasse III Ruhe-AP innerhalb der letzten 48 Stunden (akute Ruhe-AP)	IIIA	IIIB-Trop. negativ IIIB-Trop. positiv*	IIIC

*Patienten mit positivem Troponin (NSTEMI) haben eine deutlich schlechtere Prognose (27).

1.1.1 Pathogenese atherosklerotischer Gefäßläsionen

Atherosklerose ist ein systemischer Gefäßprozess, der sich in verschiedenen Erkrankungen manifestiert (KHK, periphere arterielle Verschlusskrankheit, ischämischer cerebraler Insult, chronische Niereninsuffizienz, Multiinfarktdemenz).

Für Läsionen prädisponiert sind Orte adaptiver Intimaverdickung; diese sind bei jedem Menschen an konstanten Stellen hoher Scherkräfte (z.B. Gefäßgabelungen) von Geburt an vorhanden und engen das Lumen nicht ein, sondern stellen Anpassungsvorgänge an besondere mechanische Beanspruchungen dar. Die Entstehung atherosklerotischer Läsionen ist in den frühen Stadien ein zunächst bei jedem Menschen von Kindheit an nachweisbarer charakteristischer und vorhersagbarer Prozess (91). Im späteren Verlauf können die Läsionen dann im Einzelnen unvorhersagbar in verschiedener Weise fortschreiten, so dass unterschiedliche Typen von Läsionen und entsprechende klinische Auswirkungen entstehen (92).

Die initiale atherosklerotische Läsion enthält reichlich Lipoproteine und eingewanderte mit Lipidtröpfcheneinschlüssen angefüllte Makrophagen („Schaumzellen“, foam cells), die sich im weiteren Verlauf in Schichten mit fettbeladenen glatten Gefäßmuskelzellen ablagern (makroskopisch „fatty streaks“). Entzündliche Prozesse als Reaktion des Gefäßes auf Noxen (Rauchen, Hypertonie) beginnen als endotheliale Dysfunktion, die die homöostatischen Eigenschaften des Endothels verändert und Leukozyten- und Thrombozytenadhäsion begünstigt. Durch Bildung von vasoaktiven Substanzen, Zytokinen und Wachstumsfaktoren wird die Migration und Proliferation gefördert, so dass Monozyten, T-Lymphozyten und glatte Muskelzellen in die Läsion einwandern können (68).

Das Übergangsstadium zum Atherom weist bereits extrazelluläre Lipidtröpfchen auf, die den Zusammenhalt von glatten Intima-Muskelzellen unterbrechen. Das durch weitere Progression entstandene Atherom kann schließlich durch Lumeneinengung oder Plaque-Komplikationen symptomatisch werden: Die Läsion enthält nun einen größeren konfluierenden Kern („Lipid-Rich Core“) aus extrazellulären Lipiden, vor allem Cholesterin und Cholesterinestern, die teils in kristalliner Form vorliegen. Der Kern ist umgeben von einer Schicht faserigen Bindegewebes, das den Lipidkern vom Arterienlumen trennt („Fibrous Cap“).

Im weiteren Verlauf kann der Lipidkern des Atheroms auch durch faseriges Bindegewebe ersetzt werden, das stark calciumhaltig sein kann. Späte Veränderungen der Läsion resultieren aus Komplikationen wie Ruptur der Plaque-Kappe, Einblutungen (Hämatomen) und Thrombenbildung (11, 91, 92). Vulnerable, besonders zu Komplikationen neigende Plaques sind gekennzeichnet durch einen großen Lipidkern ($\geq 50\%$ des Plaquevolumens), eine hohe Makrophagendichte sowie eine dünne faserige Kappe mit desorganisierter Kollagenstruktur und geringer Anzahl glatter Muskelzellen (11). Abbildung 1 zeigt Gefäßquerschnitte als Beispiele eines stabilen Atheroms (a) und einer rupturierten Plaque mit Thrombenbildung im Bereich des früheren Lipidkerns (b); der intravasale Thrombus oder embolisierende Bestandteile des Lipidkerns können durch Gefäßokklusion zum Myokardinfarkt führen.

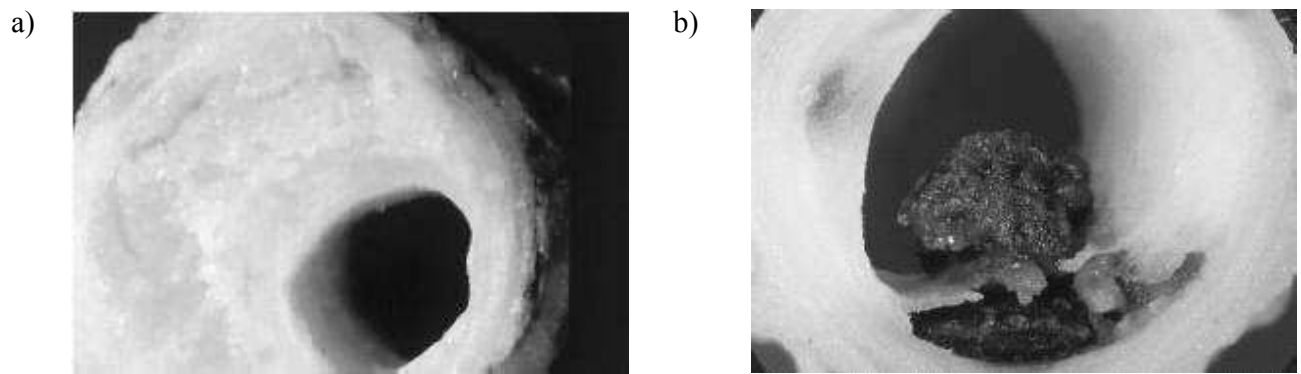


Abbildung 1: Gefäßquerschnitte bei stenosierender KHK: reifes Atherom (a) und rupturierte Plaque mit intravasalem Thrombus (b), modifiziert nach Davies (11)

1.1.2 Risikofaktoren der KHK

Die Erkrankungs- und Versterbenswahrscheinlichkeit an KHK ist stark und unabhängig mit den so genannten „klassischen“ oder konventionellen Risikofaktoren assoziiert: höheres Lebensalter (Männer >45 Jahre, Frauen >55 Jahre oder in der Postmenopause), arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Rauchen, Hyperlipidämie und/oder erniedrigtes HDL sowie positive Familienanamnese bei Verwandten 1. Grades (bei männlichen Verwandten vor deren 55. Lebensjahr, bei weiblichen Verwandten vor deren 65. Lebensjahr) (23).

Übergewicht und körperliche Inaktivität sind prädisponierende Faktoren aufgrund ihrer Verstärkung von konventionellen Risikofaktoren wie Hypertonie, Fettstoffwechselstörungen und Diabetes. Inzwischen werden sie aber auch als selbständige, unabhängige Risikofaktoren wahrgenommen (30, 66).

Hyper- bzw. Dyslipoproteinämie (Erhöhung des Gesamtcholesterins, des low density lipoprotein (LDL), Verminderung des high density lipoprotein (HDL)) sind linear mit der KHK-Mortalität korreliert (78). Modifiziertes, d.h. oxidiertes bzw. bei Diabetes glykosyliertes LDL schädigt Endothel und glatte Gefäßmuskulatur, wirkt chemotaktisch und proliferationsfördernd auf Monozyten und fördert so eine atherogene Entzündungsreaktion. Im Gegenzug verstärken aber auch Entzündungsmediatoren die lokale LDL-Bindung und die Transkription des LDL-Rezeptors, so dass ein proinflammatorischer Kreislauf entsteht (68).

Arterielle Hypertonie führt über eine mechanische Beanspruchung der Gefäßwand zu Endothelschäden und triggert koronare Ereignisse durch erhöhte Wandspannung und größeren myokardialen Sauerstoffbedarf. Außerdem erzeugt Angiotensin II, das Produkt des Renin-Angiotensin-Systems, eine Hypertrophie und vermehrte Kontraktion der glatten Gefäßmuskulatur, fördert die LDL-Oxidation und die Bildung von Oxidantien wie Peroxid-Anionen und Hydroxylradikalen (68).

Patienten mit Diabetes mellitus haben ein erhöhtes KHK-Risiko (Typ II: 2-4fach; Typ I: 3-10fach (22)), die koronare Herzkrankheit ist in dieser Gruppe Haupttodesursache (60%).

Zigarettenrauchen induziert eine Erhöhung des Fibrinogenspiegels und der Plättchenadhäsion, reduziert den HDL-Spiegel und verstärkt die koronare Vasokonstriktion. Beobachtungsstudien zeigen eine Erhöhung der kardiovaskulären Mortalität um 50% (82).

Übergewicht und Adipositas stellen einen weltweit wachsenden Risikofaktor dar. Ein erhöhter BMI (Körpergewicht in kg/(Körpergröße in m)² ≥ 25 kg/m²) ist häufig mit arterieller Hypertonie, Hypercholesterinämie und gestörter Glukosetoleranz assoziiert (66). Besonders in Entwicklungsländern kann im Prozess der Urbanisation ein paralleler Anstieg von Übergewicht und weiteren kardiovaskulären Risikofaktoren beobachtet werden, der bei den verschiedenen Ethnien neben Ernährungs- und anderen Umweltfaktoren auch von der genetischen Disposition abhängig zu sein scheint (86). Starkes Übergewicht erhöht den myokardialen Sauerstoffbedarf und schränkt körperliche Aktivität ein, so dass über ungenügendes kardiovaskuläres Training und niedrige HDL-Werte kardioprotektive Faktoren verloren gehen.

Neben diesen konventionellen Risikofaktoren wird eine Vielzahl zusätzlicher, weniger etablierter Risikofaktoren diskutiert:

Bakterielle und virale entzündliche Prozesse stehen im Verdacht, die Atherogenese zu fördern. In Beobachtungsstudien sind erhöhte Blutwerte des C-reaktiven Proteins mit der Mortalität an koronaren Ereignissen assoziiert (67). Herpesviren und Chlamydia pneumoniae wurden in verschiedenen Organen und auch in atherosklerotischen Läsionen nachgewiesen, konnten im Tierversuch bisher aber keine gezielten Läsionen induzieren (68).

Im Bereich der psychosozialen Risikofaktoren kann eine triggernde Funktion akuter Lebensereignisse für kardiale Ereignisse wie Myokardinfarkt beobachtet werden, psychische

Belastungen können außerdem ebenso wie körperliche Belastung Angina pectoris-Beschwerden auslösen. Depression und soziale Isolation wurden als unabhängige Risikofaktoren identifiziert, die Stärke der Assoziation zwischen depressiver Erkrankung und KHK soll alters- und geschlechtsunabhängig konventionellen Risikofaktoren wie Rauchen oder Hypercholesterinämie vergleichbar sein. Chronische Zustände von „Stress“, insbesondere am Arbeitsplatz, konnten dagegen nicht als Risikofaktor belegt werden (7).

1.1.3 Diagnose der KHK

Bei thorakaler Schmerzsymptomatik stehen eine symptomorientierte Anamnese, körperliche Untersuchung und gezielte Erhebung von Risikofaktoren am Anfang der Diagnostik. Auf dieser Grundlage ergibt sich ein erstes Bild von der Wahrscheinlichkeit einer kardialen Genese der Beschwerden bzw. Anhaltspunkte für einen nicht-kardialen Thoraxschmerz (22).

Entscheidungsalgorithmen liegen als Empfehlungen internationaler Organisationen vor, wegen der Komplexität des Krankheitsbildes zeigt Abbildung 2 beispielhaft den diagnostischen Algorithmus der ACC/AHA.

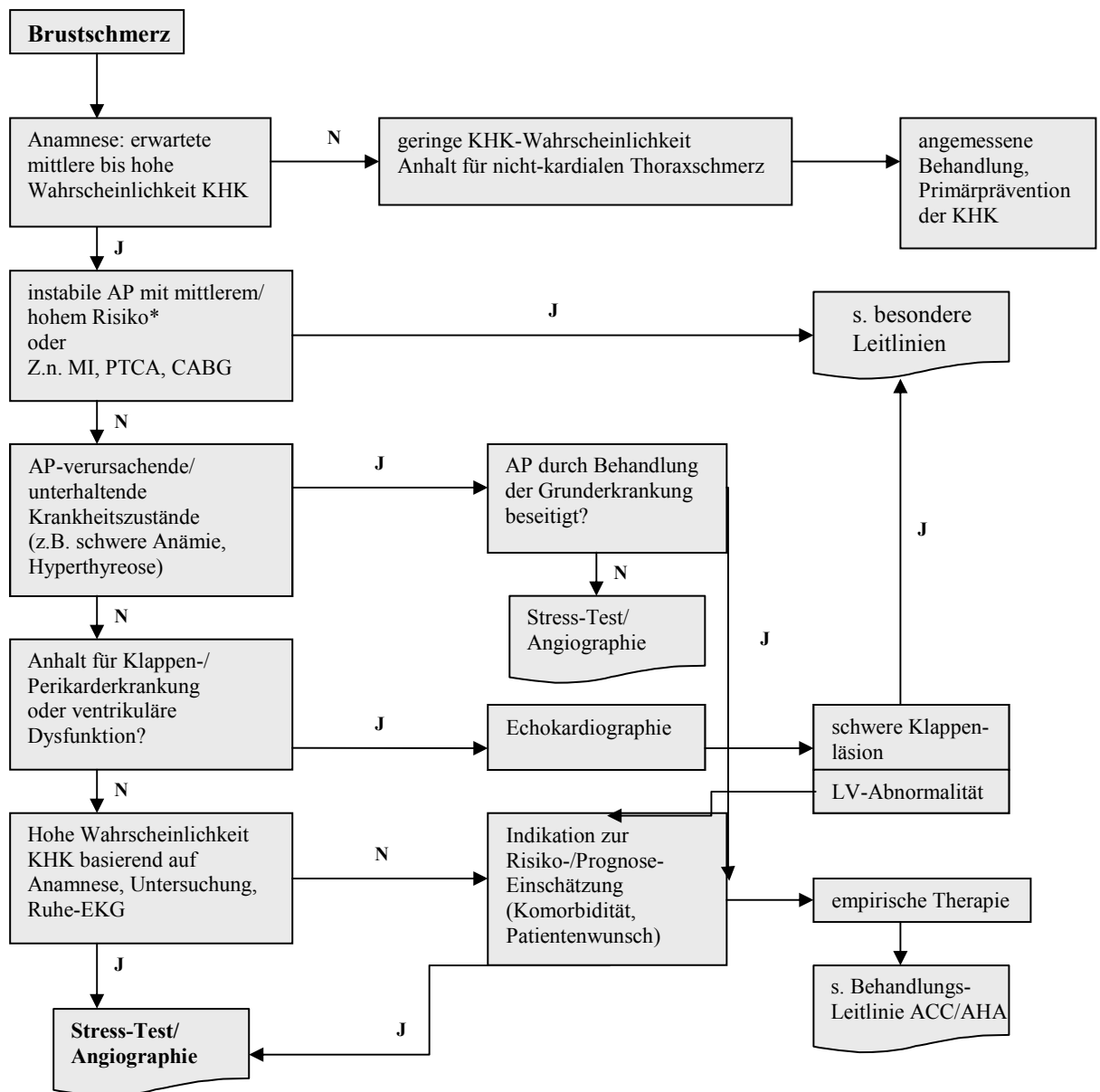


Abbildung 2: Algorithmus der ACC/AHA Leilinen, übersetzt und modifiziert nach Gibbons et al. (22) (*instabile AP mit mittlerem/hohem Risiko: Ruheschmerz länger als 20 Minuten; Alter über 65 Jahre; ST-Strecken-/T-Wellenveränderungen im Ruhe-EKG; Lungenödem)

Nach allgemeinen Empfehlungen internationaler Fachgesellschaften sind insbesondere die Patienten durch Belastungs-EKG zu untersuchen, bei denen diese Untersuchung eine gute Trennschärfe zwischen KHK-Erkrankten und Nichterkrankten bietet. Dies ist bei einer durch Anamnese, Untersuchung und Ruhe-EKG als mittelgradig eingeschätzten KHK-Wahrscheinlichkeit der Fall (22). Bei Patienten, die sich keiner körperlichen Belastung unterziehen können, oder als ergänzende Untersuchung kann eine verstärkte Herzarbeit (Erhöhung von Kontraktilität, Herzfrequenz und Blutdruck) durch pharmakologischen Reiz (Dobutamin) ausgelöst werden. Zur Verstärkung des myokardialen Blutflusses durch koronare Vasodilatation können Adenosin oder Dipyridamol verwendet werden.

In Kombination mit jeder Art von Belastungsreiz können Echokardiographie und nuklearmedizinische Bildgebung (Tc_{99m} -Sestamibi, Thallium-201) zur Aufdeckung ischämie-induzierter Kontraktilitätsstörungen bzw. Perfusionsdefekte führen (18).

Trotz laufender Fortschritte der nicht-invasiven Methoden ist der Goldstandard der KHK-Diagnostik die Koronarangiographie, die hämodynamisch relevante Stenosen der größeren epikardialen Arterien darstellt, ergänzt durch intravaskulären Ultraschall.

1.1.4 Diagnostische und prognostische Bedeutung des Belastungs-EKG

Die Fahrrad-Ergometrie stellt eine in Deutschland sehr weit verbreitete und gut etablierte Methode dar, während in anderen Ländern, z.B. Großbritannien und den USA, die Laufbandergometrie häufiger genutzt wird. Es existieren Umrechnungstabellen zwischen den verschiedenen Arten dynamischer Belastung und die aus Studien gewonnen Erkenntnisse gelten als vergleichbar (18). Unter der Fragestellung einer KHK können diagnostische Informationen insbesondere über belastungsinduzierte Ischämiehinweise wie pectanginöse Beschwerden und/oder ST-Strecken-Veränderungen gewonnen werden, die im positiven Fall starke Prädiktoren für angiographisch nachweisbare KHK, kardiovaskuläre Ereignisse und Gesamtmortalität sind (24).

Prognostische Bedeutung haben darüber hinaus die maximale Belastbarkeit in Watt oder die Leistungskapazität in metabolischen Äquivalenten (METs) (13, 44, 90) sowie die maximal erreichte Herzfrequenz (35).

Der von Mark et al. an der Duke-Universität entwickelte Duke-Score (43, 83) erzielt durch Kombination mehrerer Parameter des Belastungs-EKG einen diagnostischen und prognostischen Informationsgewinn und wird darum in internationalen Leitlinien empfohlen (18, 21). Auf die Berechnung geht Abschnitt 2.3.6 ein.

Dem diagnostischen und prognostischen Wert stehen auch beim Belastungs-EKG Untersuchungsrisiken gegenüber, denn Myokardinfarkte und Todesfälle können in 0,5‰ bis 1‰ der Untersuchungen auftreten (18). Komplikationen treten dabei vor allem in Form von tödlichen und nicht tödlich verlaufenden Myokardinfarkten, Myokardruptur und komplexen ventrikulären Rhythmusstörungen auf.

Es sollte daher eine sorgfältige Vorauswahl der Patienten bezüglich Risiko-Nutzen-Abwägung und Kontraindikationen erfolgen (94).

1.1.5 Genetische Prädisposition der KHK

Für die koronare Herzkrankheit existiert eine familiäre Disposition, die von konventionellen Risikofaktoren unabhängig besteht (51). Gleichzeitig sind viele ihrer typischen Risikofaktoren durch eine Kombination von Umweltfaktoren und vermuteter oder nachgewiesener genetischer Disposition gekennzeichnet (Diabetes mellitus Typ II, Fettstoffwechselstörungen, arterielle Hypertonie). Es gilt als wahrscheinlich, dass diese genetische Disposition nicht einem einzelnen genetischen Merkmal zugeordnet werden kann, sondern aus der Wechselwirkung und Summation verschiedener genetischer Varianten resultiert (63). Zur epidemiologischen Erforschung bieten sich genetische Polymorphismen an, die unterschiedliche Nukleotidsequenzen im menschlichen Genom darstellen. Zunächst machen sie die genetische Variabilität einer Population aus, haben im Gegensatz zur Mutation Allelfrequenzen größer 1% und gelten als evolutionsbiologisch selektionsneutral (63). Darüber hinaus werden sie als prädisponierende genetische Faktoren untersucht. Eine genauere Gegenüberstellung von Polymorphismus und Mutation liefert Tabelle 3.

Tabelle 3: Eigenschaften eines genetischen Polymorphismus in Abgrenzung zur Mutation, modifiziert nach Ortlepp et al. (63)

Mutation	Polymorphismus
DNA: Unterschied in der Nukleotidsequenz	DNA: Unterschied in der Nukleotidsequenz
medizinhistorisch beschrieben als monogene klinische Krankheitsbilder, welche in der Vererbung den Mendelschen Gesetzen gehorchen	historisch beschrieben als Variante im Phänotyp/Genotyp ohne eindeutigen Selektionsnachteil. Als „genetische Risikofaktoren“ besonders im Zusammenspiel mit anderen Genen und Umwelteinflüssen Korrelationen mit bestimmten Erkrankungen. In der Gesamtpopulation für beinahe alle Genloci beschrieben.
Beispiel: familiäre Kardiomyopathie, Mukoviszidose, familiäre Hypercholesterinämie	Beispiel: ACE-Polymorphismus, ApoE-Polymorphismus, GNB3-Polymorphismus
Oft Genprodukt (Aminosäuresequenz) verändert, mit funktionell schwerwiegenden Konsequenzen	Genprodukt häufig nicht oder nur gering verändert; in der Regel primär keine deletäre Auswirkung erkennbar
Niedrige Allelfrequenz in der Gesamtpopulation	Relativ hohe Allelfrequenz in der Gesamtpopulation (>0,01)

Eine ständig wachsende Anzahl von Polymorphismen wird in Genen beschrieben, deren Genprodukte selbst oder deren Interaktionen zu möglicherweise KHK-begünstigenden Mechanismen führen (63, 93). Über 130 Gene und Gengruppen sind beschrieben, deren Polymorphismen als potentielle genetische Risikofaktoren („Candidate Genes“) der menschlichen Atherosklerose und ihrer Folgeerkrankungen angesehen werden (93). Die Polymorphismen selbst werden dabei oft erst im Kontext des heutigen Lebensstils der industrialisierten Länder zu krankheitsbegünstigenden Faktoren; evolutionsbiologisch stellen sie in vielen Fällen die genetisch ältere Variante dar, die ihren Trägern früher, z.B. durch „sparsameren“ Stoffwechsel, einen Selektionsvorteil bot („Thrifty-genotype“-Hypothese) (54). Beispiele solcher „Kandidatengene“ der KHK gibt Tabelle 4.

Tabelle 4: Beispiele für „Kandidatengene“ mit potentiell krankheitsbegünstigenden Polymorphismen, zusammengestellt nach Ortlepp et al. (63) und Tang et al. (93)

Lipidstoffwechsel	Endothel	RAAS	Adrenozeptoren	Andere
CETP (Cholesteroles- transferprotein) Ile405Val <i>118470</i>	eNOS, NOS3 (NO-Synthase 3) (27bp) _n Intron 4; oder Glu298Asp <i>163729</i>	ACE bzw. DCP 1 (Angiotensin- Conv. Enzym) I/D Intron 16 <i>106180</i>	α_{1A} -AR (α_{1A} -Adrenozeptor) C1441T <i>104219</i>	GNB3 (G Protein β_3) C825T <i>139130</i>
APOE (Apolipo- protein E) E2,3,4 RFLP HhaI <i>107741</i>	MTHFR (Methyl- tetrahydrofolatre- duktase) C677T <i>236250</i>	AGT (Angiotensinogen) M235T <i>106150</i>	β_1 -AR (β_1 -Adrenozeptor) G1165C <i>109630</i>	
LPL (Lipoprotein- lipase) Asp9Asn Asn291Ser <i>238600</i>	ELAM 1, D62E (E-Selectin) Ser128Arg <i>131210</i>	AGTR1 (Angiotensin II- Rezeptor 1) A1166C <i>106165</i>	β_2 -AR (β_2 -Adrenozeptor) A46G <i>109690</i>	

kursiv: OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man[®])-Nummer

1.2 Der GNB3-Polymorphismus C825T als kardialer Risikofaktor

1.2.1 Hintergrund: Funktion und Struktur von G-Proteinen

Die Wirkung von Hormonen, Neurotransmittern oder Zytokinen, die die Zellwand nicht überwinden können, wird mit Hilfe von membranassoziierten Rezeptoren über Second Messenger-Systeme zu den intrazellulären Effektoren weitervermittelt. Typische Beispiele sind Rezeptoren für Katecholamine, Gonadotropin, Parathormon, Glucagon, TNF, CSF, PDGF oder spezialisierte Sinneszellen (Geruchsstoffe, Licht).

Diese Rezeptoren sind integrale Membranproteine, die mit sieben hydrophoben transmembranären Helices die Plasmamembran durchdringen (daher auch „heptahelicale Rezeptoren“), während ihr N-Terminus extrazellulär liegt und sich an der Ligandenbindung beteiligt. Der C-Terminus interagiert intrazellulär meist mit heterotrimeren, Guanin-Nukleotid-bindenden Proteinen (G-Proteine) (26).

Für die Liganden-Spezifität sind im Falle des TRH-Rezeptors neben dem N-Terminus auch die variablen, die transmembranären Helices verbindenden extrazellulären Schleifen entscheidend (4) (Abbildung 3).

Bei Bindung des Liganden kommt es zu einer Konformationsänderung des Rezeptors, so dass funktionell entscheidende Aminosäuresequenzen ins Zytoplasma verlagert werden, die dann G-Proteine aktivieren, weswegen entsprechende Rezeptoren auch als G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (G Protein coupled receptors, GPCR) bezeichnet werden.

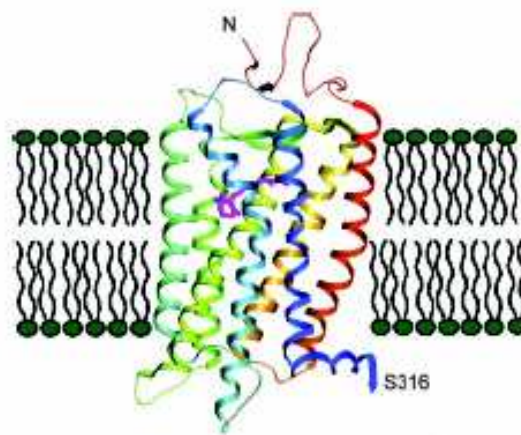


Abbildung 3: Aufbau heptahelicaler Rezeptoren am Beispiel von Rhodopsin, modifiziert nach Cabrera-Vera et al. (8)

G-Proteine liegen im Ruhezustand als membrangebundenes Heterotrimer in unmittelbarer Nähe eines membrangebundenen Rezeptors vor. Unterschieden werden eine α -, eine β - und eine γ -Untereinheit, wobei β und γ (außer β_5 , s. u.) nur durch Denaturierung getrennt werden können und daher ein funktionelles Monomer bilden.

Die größte Untereinheit α bindet an den Rezeptor und besitzt eine Bindungstasche für Guanin-Nukleotide. Im inaktiven Zustand ist dort Guanosindiphosphat (GDP) gebunden, nach Aktivierung des Rezeptors durch seinen Liganden begünstigt eine durch den Rezeptor induzierte, innerhalb der α -Untereinheit fortgeleitete Konformationsänderung die Freigabe des GDP und Bindung von Guanosintriphosphat (GTP), das gebunden bleibt, bis die intrinsische GTPase-Aktivität der α -Untereinheit es zu GDP hydrolysiert, was den inaktiven Zustand wieder herstellt.

Abbildung 4 veranschaulicht die Ligandenaktivierung des Rezeptors mit seinem gebundenen, inaktiven G-Protein (α GDP $\beta\gamma$ -Heterotrimer), gefolgt von der Ablösung des GDP, Aufnahme von GTP und damit Aktivierung des G-Proteins. Nach Ablösung des G-Proteins vom Rezeptor und Trennung von GTP α -Untereinheit und $\beta\gamma$ -Einheit erhalten diese so lange Gelegenheit zur Interaktion mit ihren Effektoren, bis die intrinsische GTPase-Aktivität der α -Untereinheit als Zeitgeber die Aktivierung beendet. Das GDP α verbindet sich wieder mit $\beta\gamma$, das Heterotrimer bindet wieder an den Rezeptor, und der Aktivierungszyklus kann erneut beginnen.

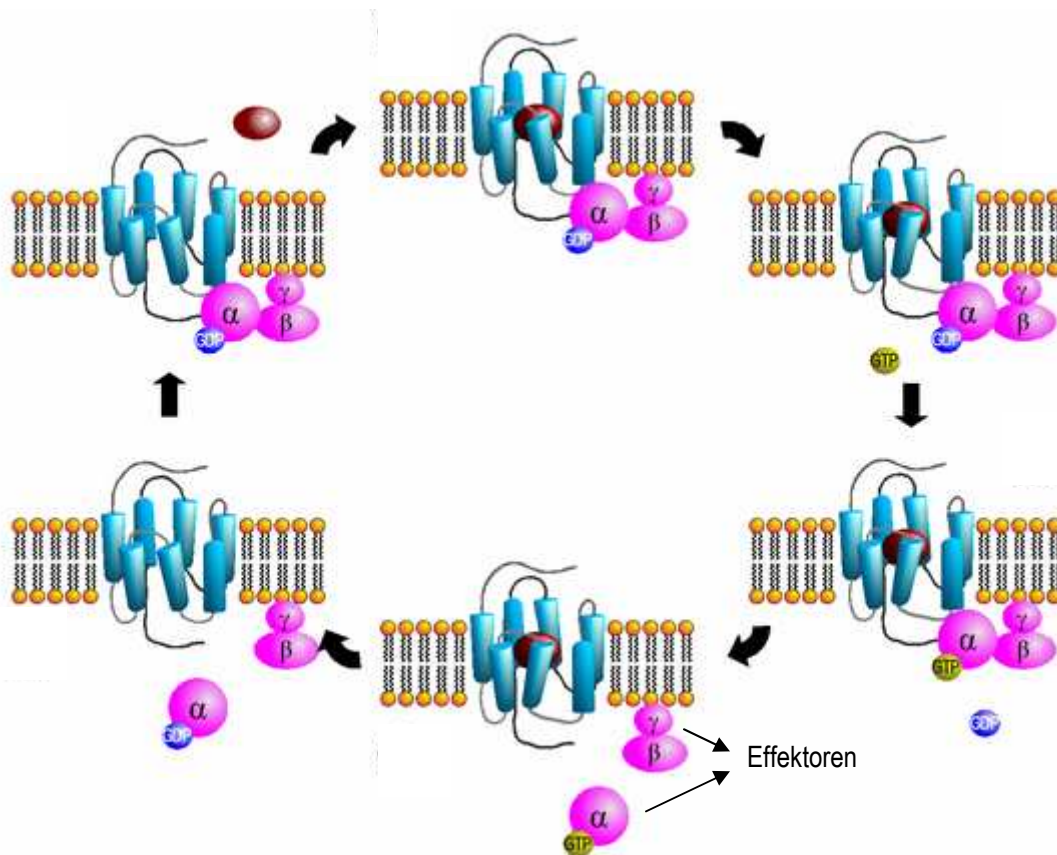


Abbildung 4: Aktivierungszyklus der G-Proteine, modifiziert nach Birnbaumer et al. (4) und Cabrera-Vera et al. (8)

Geschwindigkeitsbestimmender Schritt im Aktivierungszyklus ist die Abgabe des GDP, deren Geschwindigkeit sich zwischen verschiedenen Familien der α -Untereinheiten unterscheidet.

Bisher wurden 16 Gene identifiziert, die für die 39-50 kDa schweren α -Untereinheiten kodieren und aus denen sich durch Spleißvarianten mehr als 20 Genprodukte ergeben (4). Nach ihren bevorzugten Effektoren, ihrer Effektorwirkung und ihrem Vorkommen (Spezialisierungen wie olfaktorisches Epithel oder Photorezeptoren) werden vier Familien unterschieden ($G\alpha_{i/o}$, $G\alpha_s$, $G\alpha_{q/11}$, $G\alpha_{12/13}$). Eine Übersicht über deren Subtypen und Effektorwirkungen gibt Tabelle 5.

Tabelle 5: Familien, Subtypen und Effektoren der G-Protein α -Untereinheit, modifiziert nach Cabrera-Vera et al. (8)

Familie	Subtyp	Effektoren
G_s	$G_{as(S)}$ $G_{as(L)}$ $G_{\alpha\text{ olf}}$	\uparrow Adenylatcyclase \uparrow Tubulin-GTPase \uparrow Src-Tyrosinkinase \rightarrow MAPK \uparrow Adenylatcyclase
G_i	$G_{ai\ 1}$ $G_{ai\ 2}$ $G_{ai\ 3}$ $G_{ao\ A}$ $G_{ao\ B}$ G_{az} $G_{at\ 1}$ $G_{at\ 2}$ G_{ag}	\downarrow Adenylatcyclase Rap 1 GAP (GTPase aktivierendes Protein) GRIN 1+2 \uparrow Tubulin-GTPase \uparrow Src Ca^{2+} - und K^+ -Kanäle \uparrow cGMP-PDE
G_q	G_{aq} G_{a11} G_{a14} $G_{a15/16}$	\uparrow Phospholipase C- β \uparrow Btk (Bruton's Tyrosinkinase)
G_{12}	G_{a12} G_{a13}	\uparrow NHE-1 \uparrow Phospholipase D \uparrow p115RhoGEF (RGS-Protein) \uparrow iNOS (NO-Synthetase)

(\uparrow = "aktiviert", \downarrow = "inhibiert")

Der $G\alpha$ -C-Terminus ist für die Rezeptorbindung mit verantwortlich: ADP-Ribosylierung des vierten Aminosäure-Restes durch das Toxin von Bordetella pertussis (PTX) entkoppelt $G_{i/o}$ -Proteine von ihrem Rezeptor, diese Familie wird daher als PTX-sensitiv bezeichnet (8).

$G\beta$ -Proteine haben ein Molekulargewicht um 35 kDa, die $G\gamma$ -Proteine sind mit 6 bis 10kDa bedeutend kleiner (4).

Von den 5 G β -Genen zeigen G β_1 bis G β_4 >80% Sequenzhomologie und werden ubiquitär exprimiert (20). G β_5 ist vor allem im ZNS exprimiert und weist nur 50% Sequenzhomologie auf; auffällig ist ein längerer N-Terminus. G β_5 widerspricht der Regel, dass β - und γ -Untereinheit funktionell untrennbar sind, da es in vivo auch allein, in gelöster Form, an Regulatorproteine gebunden vorkommt und auch ohne γ -Untereinheit eine eigene Effektorwirkung besitzt (8).

G β -Proteine besitzen eine typische Propellerstruktur, die sich aus sieben repetitiven, phylogenetisch hochkonservierten Aminosäure-Sequenzen von je ca. 43 Aminosäuren ergibt: Nach einer Reihe variabler Aminosäure-Reste unterschiedlicher Länge zeigt sich ein von Glycin-Histidin (GH) und Tryptophan-Asparaginsäure (WD) umrahmter „conserved core“ konstanter Länge. Propellerproteine mit diesem Aufbau werden daher auch als WD40-Proteine bezeichnet und enthalten zwischen vier und zehn solcher Repeats (55).

Jedes Propellerblatt besteht aus einem viersträngigen, antiparallelen β -Faltblatt. Die konservierte Struktur des G β -Propellers deutet auf funktionelle Spezialisierungen der Propellerblätter hin. Entsprechend sollen die Blätter 1 und 2 zur G α -Bindung dienen, 5 bis 7 sowie 1 als breite Kontaktfläche zu G γ (einschließlich der γ -Selektivität), während weitere Kontaktstellen mit dem Rezeptor selbst oder der N-terminalen α -Helix der α -Untereinheit interagieren (55).

Das N-terminale Ende von G β bildet als α -Helix ein „coiled coil“ mit der N-terminalen Helix von G γ . Die γ -Untereinheit lagert sich der Unterseite von G β langstreckig an, die N-Termini sind in nicht-denaturiertem Zustand fest miteinander verbunden. Struktur und Membranorientierung eines G-Protein-Heterotrimers zeigt Abbildung 5.

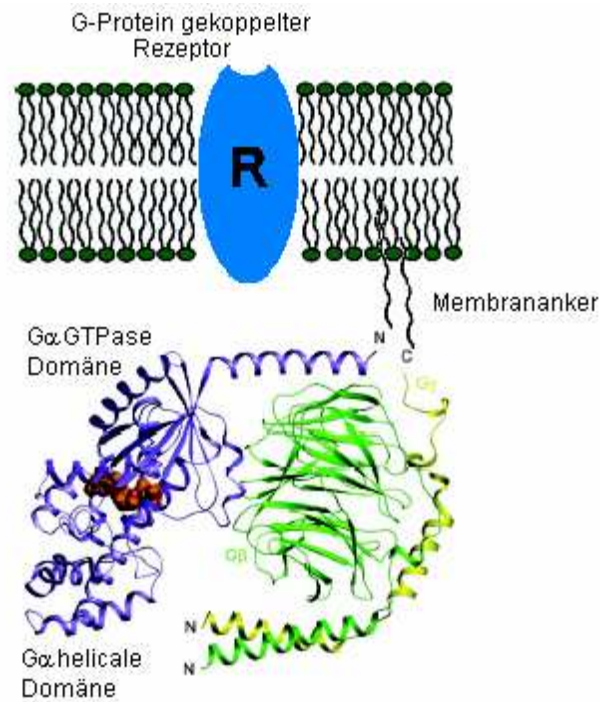


Abbildung 5: Struktur und Membranorientierung von heterotrimeren G-Proteinen (am Beispiel von G_i), modifiziert nach Cabrera-Vera et al. (8)

Für die Effektorwirkung des $\beta\gamma$ -Dimers entscheidend ist die Kombination der Untereinheiten. Das funktionelle Monomer $G\beta\gamma$ übt eine Vielfalt von Effektorwirkungen aus, die gegenüber denjenigen des zugehörigen $G\alpha$ -Proteins neutral, verstärkend oder auch antagonistisch sein können. Tabelle 6 gibt eine Übersicht hierüber.

Tabelle 6: Effektoren und Wirkungen der $G\beta\gamma$ -Untereinheit, modifiziert nach Cabrera-Vera (8)

Effektor	Wirkung von $G\beta\gamma$
Phospholipase β	↑
Adenylatcyclase I	↓
Adenylatcyclase II, IV, VII	↑
K^+ -Kanäle (GIRK 1,2,4)	↑
Ca^{2+} -Kanäle	↓
G Protein Rezeptor Kinase	Rekrutierung zur Membran

(Fortsetzung nächste Seite)

(Fortsetzung von Tabelle 6)

Effektor	Wirkung von G β γ
IP ₃ -Kinase	↑
Bruton's Tyrosinkinase	↑
Tsk Tyrosinkinase	↑
Proteinkinase D	↑
Calmodulin	Inhibition der Calmodulinkinase
Tubulin	Verstärkte GTPase-Aktivität
Dynamin I	Verstärkte GTPase-Aktivität
Raf-1 Proteinkinase	Sequestration von G β γ
KSR-1	Sequestration von G β γ

1.2.2 Der G β ₃ C825T-Polymorphismus

1.2.2.1 Beschreibung und Auswirkungen des Polymorphismus

Die dritte Isoform der G β -Untereinheiten, G β ₃, wurde 1990 von Levine et al. identifiziert (38). Das 340 AS (cDNA: 1023 bp)-Peptid besitzt ein Molekulargewicht von 37.221 Da.

1998 beschrieben Siffert et al. einen Single-Nucleotid Polymorphismus des für die G β ₃-Untereinheit kodierenden Gens, der zu einem verkürzten Genprodukt führt: In Zellkulturen hypertensiver Probanden mit Merkmalen verstärkter intrazellulärer Signaltransduktion wurde durch RT-PCR ein Basenaustausch von Cytosin gegen Thymin an Position 825 der cDNA identifiziert (85). Obwohl es sich aufgrund des degenerierten Codes um eine sinngleiche Aminosäure-Kodierung handelt (TCC=TCT=Serin), tritt bei Polymorphismus-Trägern ein zusätzliches, um 123 Basenpaare verkürztes PCR-Produkt auf, GNB3-s. Der Dimorphismus in Exon 10 begünstigt, vermutlich durch Konformationsänderungen der prä-mRNA, das alternative Splicing in Exon 9, so dass es zur Deletion der Nukleotide 498 bis 620 kommt (Abbildungen 6 und 8).

Dem verkürzten Genprodukt G β ₃-s fehlen 41 Aminosäuren, entsprechend den letzten 4 AS des dritten WD-Repeats sowie des gesamten vierten WD-Repeats bis auf die letzten 5 AS (85) (Abbildung 7).

Da Propellerstrukturen mit unterschiedlicher Anzahl an WD-Repeats vorkommen (55) und ihre Faltung gegen Mutationen sehr robust ist (19), wird angenommen, dass $G\beta_3$ -s trotz der Verkürzung die typische Propellerform eingehen kann (31).

Das T-Allel des C825T-Polymorphismus ist mit dem Auftreten von $G\beta_3$ -s (als RT-PCR-Produkt) und mit einem zellulären Phänotyp vermehrter intrazellulärer Signaltransduktion assoziiert (70, 85) (siehe auch Kapitel 1.2.2.3). Ob dieser „gain of function“ in der Signaltransduktion durch eine funktionsverbessernde Eigenschaft des verkürzten Proteins selbst oder, im Gegenteil, durch eine Abnahme funktionierender $G\beta_3$ -Untereinheiten bei Trägern des T-Allels zustande kommt, ist zur Zeit noch umstritten (73, 88).

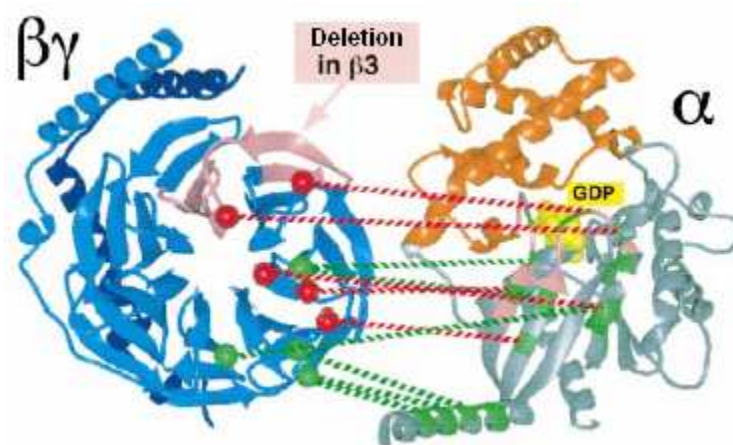


Abbildung 6: Interaktionsstellen von $G\beta$ - und $G\alpha$ -Untereinheit, die zur Trimerisierung bzw. zur Aktivierung der $G\alpha$ -Untereinheit (GDP-GTP-Austausch) wichtig sind (entnommen aus (31))

$G\alpha$: (rosa) „Lippe“, die GDP festhält; $G\beta$: (rosa) in $G\beta_3$ -s deletierter Bereich

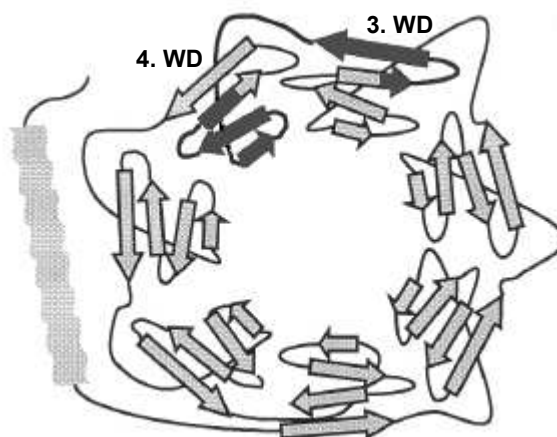


Abbildung 7: Schematische Darstellung der von der Deletion betroffenen Propellerstruktur, adaptiert nach Rosskopf et al. (71)

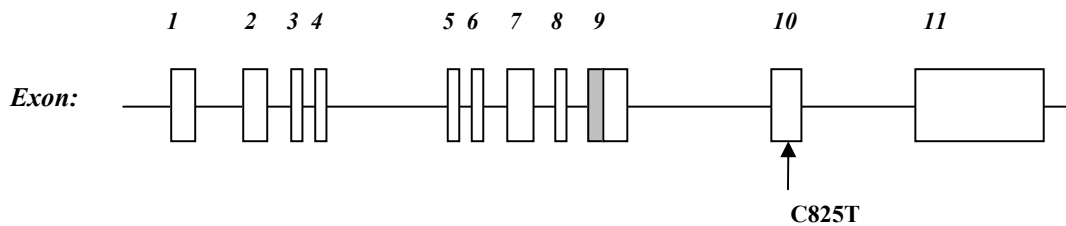


Abbildung 8: Exons von GNB3 mit Deletion in Exon 9 (grau); der Polymorphismus selbst liegt vom betroffenen Deletionsgebiet weit entfernt in Exon 10 (nach Roskopf et al. (71))

1.2.2.2 Verbreitung des Polymorphismus

Die höchsten Allelfrequenzen des C825T-Polymorphismus finden sich bei Schwarzafrikanern aus Zimbabwe und Südafrika (81,4 bis 84,1%), mittlere Allelfrequenzen bei Chinesen (47,7%) und die niedrigsten in der deutschen Bevölkerung (31,9%) (86). Populationsspezifische Studien bestätigen eine Allelfrequenz von etwa 30% bei Kaukasiern (65, 87), 49 bis 52% bei Japanern (33), 74 bis 79% bei Afrikanern (16) und etwa 50% bei kanadischen Inuit (28).

1.2.2.3 Assoziationen des C825T-Polymorphismus mit Erkrankungen und Risikofaktoren der KHK

Der GNB C825T-Polymorphismus zeigt verschiedene Eigenschaften, die ihn zum Kandidaten eines genetischen Risikofaktors der KHK machen.

Während für viele Polymorphismen epidemiologisch Assoziationen mit KHK oder deren Risikofaktoren gezeigt werden können, fehlt diesen in den meisten Fällen ein intermediärer Phänotyp.

Der C825T-Polymorphismus dagegen ist mit einem Phänotyp verstärkter intrazellulärer Signaltransduktion assoziiert: Ein mit ihm verbundenes Merkmal ist die verstärkte Aktivität des Natrium-Protonen-Antiporters (NHE-1) (79). Eine verstärkte Aktivität des NHE-1 bei arteriellem Hypertonus war seit längerem beobachtet worden (69), welche bei gleicher Antiporter-Zahl mit vermehrter Phosphorylierung einhergeht (57). Das den NHE-1 kodierende Gen (APNH) selbst war bereits früher durch Kopplungsanalyse als Kandidatengen für arterielle Hypertonie ausgeschlossen worden (39). In der glatten Gefäßmuskulatur spontan hypertensiver Ratten ist die vermehrte Turnover-Aktivität des NHE unter der Kontrolle der $\beta\gamma$ -Untereinheiten von G-Proteinen (62).

Entsprechend zeigte sich bei Identifizierung des GNB3 C825T-Polymorphismus in Zellkulturen hypertensiver Patienten, dass die zellulären Phänotypen verstärkter NHE-1-Aktivität und vermehrter G-Protein-Aktivierung fast ausschließlich bei Trägern des T-Allels zu beobachten sind (85). Infolge der vermehrten Aktivierung von G_i -Proteinen treten Veränderungen verschiedenster zellulärer Funktionen auf, betreffend z.B. die Zellproliferation (84), Thrombozytenaggregation (52), Immunantwort (41, 95) und Membranpotentiale (15).

Auf zellulärer Ebene gewonnene Erkenntnisse konnten in Hypothesen umgesetzt werden, die durch klinische Studien Bestätigung fanden: z.B. der Nachweis einer Assoziation des TT-Genotyps mit reduziertem Risiko von Vorhofflimmern (77) aufgrund vermehrter Inward-Rectifier Aktivität (15); oder eine wegen des veränderten Proliferationsverhaltens frühere urologische Tumorprogression (17). Darüber hinaus ist der C825T-Polymorphismus ein pharmakogenetischer Marker, der zunehmende Bedeutung in der Wirkweise von Medikamenten erlangt (vgl. z.B. (48, 58)).

Besonders deutlich wird der C825T-Polymorphismus mit verschiedenen Risikofaktoren der KHK in Verbindung gebracht: Das Vorkommen arterieller Hypertonie wird bei Trägern des T-Allels gehäuft gefunden (3, 16, 29, 79, 85), auch wenn dies nicht in allen Populationen, wie z. B. bei Asiaten, bestätigt werden kann (33). Patienten mit 825T-Allel zeigen bei leichter Hypertonie ein rascheres Fortschreiten der Erkrankung und vermehrte Behandlungsbedürftigkeit (75). Pathogenetisch könnte dabei eine vermehrte arterielle Gefäßsteifigkeit eine Rolle spielen (60).

Auch ein indirekter Zusammenhang von Hypertonie und Genotyp durch eine Erhöhung der Adipositas-Wahrscheinlichkeit bei Polymorphismusträgern wird diskutiert: Ein erhöhter Body-Mass-Index wird vor allem unter den Ernährungsgewohnheiten westlicher Industrienationen und bei körperlicher Inaktivität in Assoziation mit dem T-Allel gefunden (86, 87). In der Gruppe der Übergewichtigen konnte wiederum in verschiedenen Ethnien die Assoziation des Polymorphismus mit Hypertonie bestätigt werden (36, 86, 87).

Über ein erhöhtes Risiko fortgeschrittener Carotis-Atherosklerose (97) und ischämischen Schlaganfalls bei Weißen (49) durch den CT/TT-Genotyp wird berichtet. Carotisstenose und KHK sind im Krankengut stark miteinander assoziiert (37).

Bei Hypertonie-Patienten ist das T-Allel in mehreren Studien mit echokardiographisch diagnostizierter linksventrikulärer Hypertrophie assoziiert (65, 81). Erhöhte LV-Masse konnte aber vor allem in frühen Erkrankungsstadien nicht immer bestätigt werden (99). Unabhängig von strukturellen

Veränderungen oder Störungen der systolischen LV-Funktion zeigen hypertensive Träger des T-Allels diastolische Relaxationsstörungen (32); in einem rezessiven Modell sind davon nicht nur hypertensive Eltern, sondern auch deren Nachkommen des TT-Genotyps betroffen (61).

Für Insulinresistenz und Diabetes mellitus Typ 2 scheint eine geringe Risikoerhöhung für Träger des T-Allels zu bestehen (72, 97), die allerdings nicht in allen Populationen zu bestätigen ist (46). Ein wesentlicher Zusammenhang mit Parametern des Glucosestoffwechsels wurde bisher nicht gefunden (59, 74).

Aufgrund seines ubiquitären Vorkommens stellt $G\beta_3$ -s außerdem einen komplexen Einflussfaktor für die Gefäßregulation dar. Auf Endothelin-1, Angiotensin II und Noradrenalin reagieren Träger des T-Allels mit stärkerer Verminderung der Haut-Mikrozirkulation (98), während die Venodilatation auf Nitroglycerin verstärkt ist (48). Nach intrakoronarer Gabe von α_2 -Sympathomimetika zeigen atherosklerotische Koronarabschnitte eine Vasokonstriktion (1), die bei Trägern des T-Allels besonders ausgeprägt ist und häufiger mit klinischen Ischämiezeichen einhergeht (2).

Wenig erstaunlich erscheint daher, dass Träger des 825T-Allels in einer Population von Koronarangiographie-Patienten überrepräsentiert sind, eine Gen-Dosis-Wirkung bezüglich der Schwere der Erkrankung konnte nachgewiesen werden (96). Studien an Infarktpatienten zeigen keine signifikante Assoziation des $G\beta_3$ C825T-Polymorphismus allein mit dem Auftreten von Myokardinfarkten (5, 29), wohl aber für die Kombination des 825T-Allels mit dem ACE D-Allel (53).

Eine deutliche Assoziation des 825T-Allels mit Risikofaktoren und manifesten kardiovaskulären Erkrankungen einerseits und gefäßregulierenden Mechanismen andererseits machen diesen GNB3-Polymorphismus zu einem potentiellen genetischen Risikofaktor der KHK.

Bei gesunden Probanden mit T-Allel ist außerdem eine verstärkte orthostatische Sympathikusaktivierung zu beobachten (45), was Unterschiede der Genotypen bei der Anpassung an körperliche Belastung möglich erscheinen lässt.

1.3 Aufgabenstellung

Ziel dieser Arbeit ist es festzustellen, ob Träger des $G\beta_3$ C825T-Polymorphismus, die sich unter dem Verdacht einer KHK einem Fahrrad-Belastungs-EKG unterziehen, Unterschiede in Belastungsverlauf und -befund zeigen. Insbesondere soll untersucht werden, ob unter physiologischer Belastung vermehrt klinische Beschwerden oder Ischämiehinweise im EKG zu beobachten sind und ob dieser Genotyp hinsichtlich der hämodynamischen Anpassung an Belastung, wie z.B. der Blutdruckregulation, Besonderheiten zeigt.

2 Methoden

2.1 Patientenkollektiv

2.1.1 Auswahl und Beschreibung der Population

In die vorliegende Untersuchung wurden Patienten eingeschlossen, die sich mit akuten thorakalen Schmerzen in der Notaufnahme des Universitätsklinikums Essen vorstellten.

Nach Ausschluss eines akuten ischämischen Ereignisses erfolgte die kardiologische Diagnostik zur Abklärung einer koronaren Herzkrankheit. Es wurden nur Patienten in dieser Untersuchung berücksichtigt, bei denen im Verlauf der kardiologischen Abklärung ein Belastungs-EKG durchgeführt wurde. Patienten mit Myokardinfarkt oder koronarer Intervention in der Vorgeschichte wurden ausgeschlossen.

Bei den eingeschlossenen Patienten wurde eine Genotypisierung bezüglich des G β_3 C825T-Polymorphismus durchgeführt.

Nach den Auswahlkriterien ergab sich zunächst eine Stichprobe von 104 Patienten. Davon wurden 9 nachträglich ausgeschlossen, weil acht Patienten ein Blockbild im Ruhe-EKG zeigten und ein Patient unter Belastung einen bifaszikulären Block entwickelte. Die Daten der nachträglich ausgeschlossenen Patienten werden in Tabelle 7 aufgeführt.

Das verbleibende Kollektiv von 95 Patienten setzte sich aus 83 Männern und 12 Frauen zusammen, das durchschnittliche Alter lag bei 59 Jahren. 41 Patienten hatten den Genotyp CC, 46 waren heterozygot (CT) und 8 Patienten waren für das T-Allel homozygot (TT) (Tabelle 8).

Tabelle 7: Nachträglich ausgeschlossene Patienten

Patient Nr.	Geschlecht	Alter	Genotyp	Ausschlussgrund
4	männlich	75 J.	CC	LSB in Ruhe
27	weiblich	64 J.	CC	LSB in Ruhe
28	männlich	71 J.	CC	LSB in Ruhe
46	männlich	76 J.	CC	LAH + unter Belastung neu aufgetretener RSB
63	männlich	61 J.	CT	LSB in Ruhe
79	männlich	81 J.	CC	LSB in Ruhe
86	weiblich	66 J.	TT	LSB in Ruhe
91	männlich	66 J.	CT	LSB in Ruhe
102	männlich	68 J.	CT	LSB in Ruhe

Linksschenkelblock im Ruhe EKG	4xCC, 3xCT, 1xTT
Neu aufgetretener bifaszikulärer Block	1xCC

Tabelle 8: Charakteristika des Patientenkollektivs

			Geschlecht		Gesamt
			männl.	weibl.	
Alter bei Untersuchung	Mittelwert		59,22	60,44	59,37
	Standardabweichung		8,75	11,56	9,08
GNB Genotyp	CC	Anzahl	36	5	41
		%	43,4%	41,7%	43,2%
	CT	Anzahl	40	6	46
		%	48,2%	50,0%	48,4%
	TT	Anzahl	7	1	8
		%	8,4%	8,3%	8,4%
Gesamt	Anzahl		83	12	95

2.1.2 Patientencharakteristika

Neben Genotypisierung und Belastungsuntersuchung erfolgten bei jedem Patienten eine körperliche Untersuchung, Anamneseerhebung und Erfragung der kardiovaskulären Risikofaktoren. Körpergröße und Körpergewicht wurden ohne Schuhe in leichter Kleidung bestimmt.

Bei der Medikamentenanamnese wurde die Einnahme von Betarezeptorenblockern wegen deren besonderer Bedeutung für die Ergometrie separat von anderen, typischen antihypertensiven Medikamenten erfasst. Bei allen Medikamentenangaben wurde die Substanzklasse dokumentiert, wegen der Vielzahl an Möglichkeiten konnte aber nicht zwischen einzelnen Medikamenten oder eingenommener Dosis differenziert werden.

An Risikofaktoren wurde insbesondere nach positiver Familienanamnese, d. h. kardialen Ereignissen bei Verwandten 1. Grades vor deren 60. Lebensjahr und nach bekanntem Diabetes mellitus beim Patienten gefragt.

Aus den Routineblutentnahmen wurden Elektrolytwerte und Cholesterinwerte bestimmt. Probanden mit Elektrolytwerten außer der Norm sollten von der Belastungsuntersuchung ausgeschlossen werden, dies war aber bei keinem Patienten erforderlich.

Aus Körpergewicht und -größe wurde nach der Formel $BMI = \text{Körpergewicht [kg]} / (\text{Körpergröße [m]})^2$ der Body-Mass-Index errechnet. Dieser wurde zusätzlich in drei Gruppen klassiert, entsprechend der Merkmale „normgewichtig“ ($BMI < 25 \text{ kg/m}^2$), „übergewichtig“ (BMI 25 bis 27 kg/m^2) und „adipös“ ($BMI > 27 \text{ kg/m}^2$) (86).

2.2 Genotypisierung

Die Probengewinnung wurde gleichzeitig mit einer kliniküblichen Laborkontrolle durchgeführt, die so erhaltenen EDTA-Blutproben wurden mit dem Einverständnis der Patienten der Genotypisierung bezüglich des G β_3 -C825T-Polymorphismus unterzogen.

Dazu wurde das ursprüngliche, 1998 von Siffert et al. beschriebene Verfahren verwendet (85): Die DNA-Extraktion erfolgte nach Standard-Methoden (47). Die verwendeten Primer waren 5'-TGACCCACTTGCCACCCGTGC-3' (sense) und 5'-GCAGCAGCCAGGGCTGGC-3' (antisense). Die PCR startete mit Denaturierung bei 94°C für 5 Minuten, gefolgt von 35 Zyklen (1 Minute

Denaturierung bei 94°C, Annealing bei 60°C für 45 Sekunden, Extension bei 72°C für 1 Minute) und einer abschließenden Extension bei 72°C über 7 Minuten. Nach Restriktion durch *BseDI* (Fermentas) wurden die PCR-Produkte auf 2,5%igem Agarosegel aufgetrennt und nach Behandlung mit Ethidiumbromid unter UV-Licht sichtbar gemacht. Die komplette Restriktion (CC-Genotyp) ergab Banden von 116 bp und 152 bp Größe, das ungespaltene Produkt (TT-Genotyp) war 268 bp groß. Zum Zeitpunkt der Belastungsuntersuchung waren die Ergebnisse der Genotypisierung nicht bekannt.

2.3 Belastungs-EKG

2.3.1 Indikationsstellung

Die Durchführung des Belastungs-EKG erfolgte nach den „Leitlinien zur Ergometrie“ der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie (94) sowie den ACC/AHA Leitlinien (21, 22).

Die Indikation zur Belastungsuntersuchung wurde in unserer Stichprobe aufgrund der zur Aufnahme führenden Symptomatik gestellt, das heißt gemäß Klasse I der ACC/AHA Leitlinien (22), Verdacht auf koronare Herzkrankheit oder Veränderung des klinischen Bildes. Der die Indikation stellende Arzt war vom Untersucher unabhängig.

2.3.2 Patientenvorbereitung

Die Patienten wurden gebeten, etwa drei Stunden vor Testdurchführung nicht mehr zu essen oder zu rauchen.

Hinsichtlich der Medikamenteneinnahme war eine Abwägung erforderlich. β -Blocker verhindern oft das Erreichen der Ausbelastungsherzfrequenz oder können, ebenso wie Calcium-Antagonisten oder Nitrate, das Testresultat verfälschen, indem sie die symptomfreie Belastungsschwelle erhöhen. Daher sollten sie in der Regel mindestens 48 Stunden vor der Belastungsuntersuchung abgesetzt werden (22). Digitalisinduzierte ST-Streckensenkungen können nach Absetzen des Medikaments noch zwei Wochen persistieren (18).

Da die Patienten unserer Stichprobe wegen akuter Beschwerden zur Aufnahme kamen, wurden sie unter Fortführung ihrer medikamentösen Therapie getestet. Dies ist trotz diagnostischer Nachteile in der klinischen Praxis ein übliches Vorgehen, um vermehrte Risiken durch erneute klinische Verschlechterung für die Patienten zu vermeiden (18).

Eine kurze Anamnese schloss unmittelbar vor Beginn der Untersuchung akute gesundheitliche Beschwerden aus. Von jedem Patienten wurden vor Durchführung der Belastung das Ruhe-EKG, Ausgangsherzfrequenz und Ruheblutdruck überprüft. Die Blutdruckmessung erfolgte durch übliche Sphygmomanometrie am rechten Oberarm, der Ruhewert wurde nach 5 Minuten Ruhe im Liegen ermittelt.

Bei der Elektrodenanbringung wurden zur Reduktion von Bewegungsartefakten die Extremitätenelektroden auf Schultern und Unterbauch verlagert. Dieses „Torso“-EKG verzerrt im Unterschied zum konventionellen Ruhe-EKG die Befunde durch eine Rechtsdrehung der Herzachse mit erhöhter Spannung in den inferioren Ableitungen, was zur fehlenden Darstellung von Q-Zacken nach inferiorem Infarkt führen kann (18). Abbildung 9 skizziert die typischen Elektrodenpositionen.

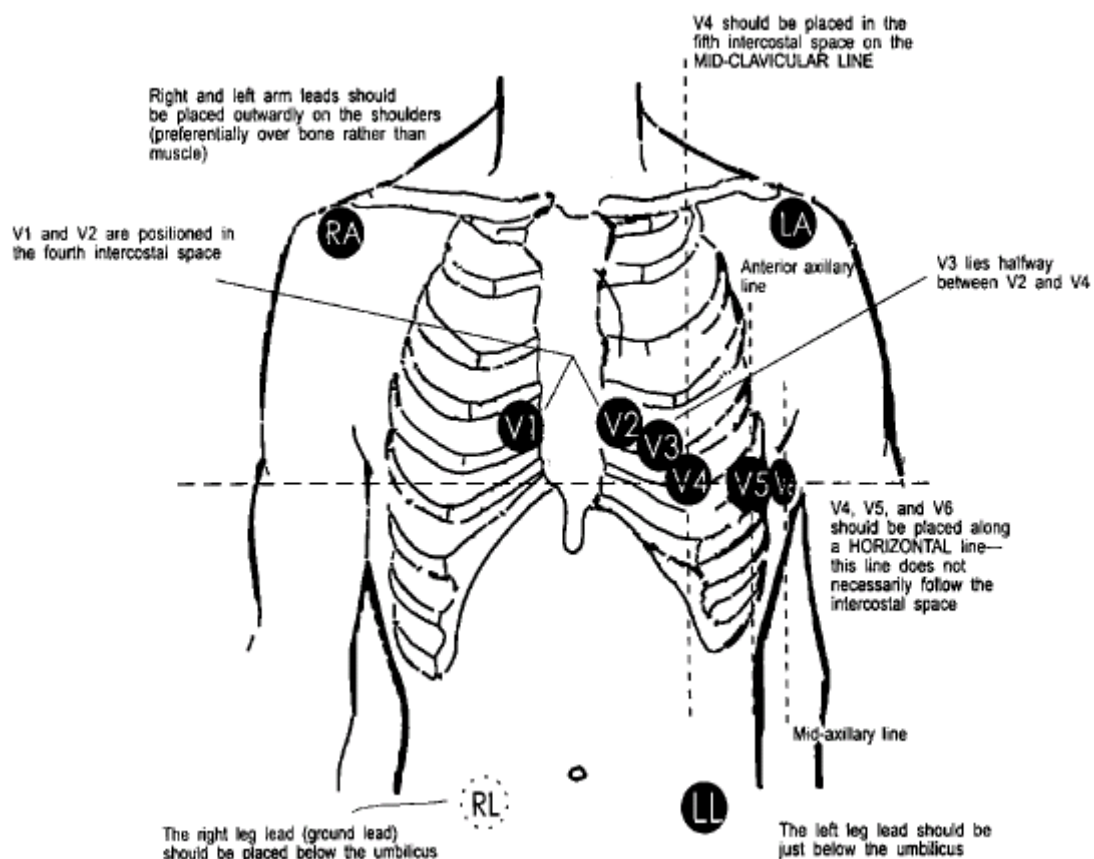


Abbildung 9: Positionierung der EKG-Elektroden am Torso, entnommen aus Fletcher et al. (18)

2.3.3 Durchführung der Belastungsuntersuchung

Eingesetzt wurde ein drehzahlunabhängiges Fahrradergometer, der leicht bekleidete Patient befand sich bei angenehmer Raumtemperatur in halb liegender Körperposition.

Die Belastungsstufen folgten dem kliniküblichen Protokoll, entsprechend dem WHO-Schema mit Beginn bei 50 bzw. 75 W je nach Trainingszustand und Steigerung um 25 W alle 2 Minuten (94). Idealerweise sollte so eine Belastungsdauer von 6 bis 12 Minuten erreicht werden (22).

Ausbelastung wurde definiert als Erreichen von mindestens 85% der maximalen Herzfrequenz, die berechnet wurde als 220 minus Lebensalter in Jahren (94).

Die Untersuchung wurde von einem erfahrenen Arzt überwacht. Während der Belastungsuntersuchung war die kontinuierliche EKG-Überwachung am Monitor möglich, ein repräsentativer EKG-Ausdruck mit einer Papiergeschwindigkeit von 50mm/s erfolgte im Minutenabstand. Die Herzfrequenz wurde aus dem EKG automatisch ermittelt, die Messung der Blutdruckwerte wurde stufenbezogen vorgenommen.

Das Protokoll vermerkte eventuell auftretende Beschwerden des Patienten, pathologische EKG-Befunde sowie den Grund des Belastungsabbruchs. Nach Ende der Belastung wurden die EKG-Registrierungen und Messungen der Kreislaufparameter für eine Erholungsphase von drei Minuten fortgesetzt. Nach weiterer klinischer Überwachung des Patienten bis zur Wiederherstellung der vor Belastung bestehenden Ruhewerte wurde die Untersuchung abgeschlossen.

2.3.4 Auswertung des Belastungs-EKG

Zur Gesamtbefundung wurden das Untersuchungsprotokoll, die repräsentativen EKG-Ausdrucke sowie die automatischen ST-Strecken-Messungen für jede Belastungsstufe und jede Ruheminute herangezogen. Zunächst wurde die vom EKG-Gerät angegebene aktuelle Herzfrequenz für jede Belastungsstufe kontrolliert und gegebenenfalls korrigiert. Die vom Computer automatisch gemessenen Werte der ST-Streckenveränderungen in den einzelnen Ableitungen wurden überprüft. Dazu wurde auf Korrektheit der Messmarkierungen und den Verlauf der gemessenen ST-Strecke geachtet. Bei Betrachtung benachbarter Kammerendteile und weiterer Ableitungen mussten die Messungen schlüssig und repräsentativ erscheinen, im Zweifel wurde eine möglichst exakte Messung per Hand durchgeführt.

Nur horizontal oder deszendierend verlaufende ST-Streckensenkungen wurden als auffällig angesehen, rasch ascendierende Verläufe wurden als Null gewertet. Bei in Ruhe vorbestehenden geringen ST-Streckensenkungen wurde eine Verstärkung um mindestens 0,1 mV als auffällig erachtet. Für Patienten, die unter Behandlung mit Digitalispräparaten standen, wurden ST-Streckensenkungen von 0,2 mV als Kriterium eines positiven Befundes angelegt (18). Eine zusammenfassende Übersicht der verwendeten Befundkriterien gibt Tabelle 9. Abbildung 10 demonstriert den Messpunkt und unterschiedliche ST-Streckenverläufe.

Tabelle 9: Kriterien eines positiven EKG-Befundes, modifiziert nach Trappe (94) und Fletcher (18)

Klin. Symptomatik:	Belastungsabhängige Angina pectoris (0=keine, 1=nicht belastungs-limitierend, 2=Abbruchgrund)	
EKG-Befunde:	Nicht pathologisch	- ST-Senkungen $<0,15$ mV (in Relation zur isoelektrischen PQ-Linie) mit ascendierendem Streckenverlauf ($>1\text{mV/s}$)
	Pathologisch	<ul style="list-style-type: none"> - horizontale oder deszendierende ST-Senkungen $>0,1\text{mV}$ 80ms nach dem J-Punkt - bei ascendierendem Streckenverlauf ($>1\text{mV/s}$) ST-Senkungen $\geq 0,15$ mV 80ms nach dem J-Punkt - bei im Ruhe-EKG vorbestehender ST-Senkung Verstärkung um $\geq 0,1\text{mV}$ - bei Vorbehandlung mit Digitalispräparaten horizontale oder deszendierende ST-Senkungen $\geq 0,2\text{mV}$ 80ms nach dem J-Punkt

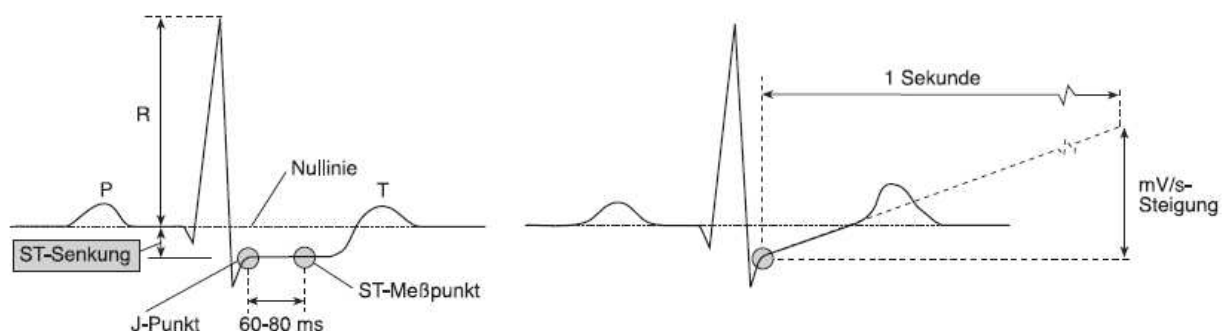


Abbildung 10: Charakteristische ST-Strecken-Senkungen mit horizontalem Verlauf der ST-Strecke (links) und mit ascendierendem Verlauf (rechts), adaptiert nach Trappe (94).

2.3.5 Bestimmung von Leistungsparametern

Aus den Belastungsdaten waren für jeden Patienten die maximal erreichte Herzfrequenz und die maximale Leistung in Watt ersichtlich, dazu musste mindestens die erste Minute der Belastungsstufe absolviert worden sein, so dass die erforderlichen Messwerte zur Verfügung standen.

Zusätzlich wurde bei unserer Untersuchung die Leistung der Patienten in Metabolische Äquivalente (METs) umgewandelt. Dieser Wert bezeichnet ein Vervielfachtes der Sauerstoffaufnahme gegenüber Ruhebedingungen und ermöglicht die Vergleichbarkeit mit anderen Belastungsformen, was für die Bestimmung des Duke-Scores (siehe Abschnitt 2.3.6) erforderlich war.

Wir ermittelten die Maximalbelastung in METs aus maximaler Belastung in Watt und Körpergewicht der Patienten anhand von geschlechtsspezifischen Tabellen (American College of Sports Medicine, modifiziert nach Pina (64)), aufgrund der eingeschränkten Wattzahl in der Tabelle für Frauen sollte bei Überschreiten dieser Wattzahl die allgemeine Tabelle angewendet werden (Tabellen 10 und 11).

Die bei einer vorgegebenen Herzfrequenz von 130/Minute erzielte Leistung pro Kilogramm Körpergewicht wird vor allem als Leistungsparameter für Menschen in mittlerem und höherem Alter empfohlen (80, 94). Wir stellten dazu anhand der Belastungsdaten bei jedem Patienten die Belastungsstufe fest, bei der er diese Herzfrequenz erreichte, und bezogen diesen Wert dann auf das Körpergewicht.

Tabelle 10: Allgemeine MET-Level Umrechnungstabelle von Leistungsstufe und Körpergewicht, zitiert nach Pina (64)

	Leistung (W)							
		50	75	100	125	150	175	200
Körpergewicht (kg)	50	5,1	6,9	8,6	10,3	12,0	13,7	15,4
	60	4,3	5,7	7,1	8,6	10,0	11,4	12,9
	70	3,7	4,9	6,1	7,3	8,6	9,8	11,0
	80	3,2	3,8	4,8	5,7	6,7	7,6	8,6
	90	2,9	3,8	4,8	5,7	6,7	7,6	8,6
	100	2,6	3,4	4,3	5,1	6,0	6,9	7,7

Tabelle 11: MET-Level Umrechnungstabelle nach Wattzahl und Körpergewicht für Frauen, basierend auf den Tabellen des American College of Sports Medicine, zitiert nach Pina (64)

	Leistung (W)													
		10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130
Körpergewicht (kg)	46	3,3	3,6	4,0	4,4	4,7	5,1	5,4	5,7	6,0	6,3	6,6	6,8	7,1
	50	3,1	3,4	3,8	4,1	4,4	4,7	5,0	5,3	5,6	5,9	6,1	6,3	6,6
	55	2,9	3,3	3,6	3,9	4,2	4,4	4,7	5,0	5,2	5,5	5,7	5,9	6,1
	59	2,8	3,1	3,4	3,7	3,9	4,2	4,5	4,7	4,9	5,1	5,4	5,6	5,8
	64	2,7	3,0	3,2	3,5	3,8	4,0	4,2	4,5	4,7	4,9	5,1	5,3	5,4
	68	2,6	2,9	3,1	3,4	3,6	3,8	4,0	4,2	4,4	4,6	4,8	5,0	5,2
	73	2,5	2,8	3,0	3,2	3,4	3,7	3,9	4,1	4,2	4,4	4,6	4,8	4,9
	77	2,4	2,7	2,9	3,1	3,3	3,5	3,7	3,9	4,1	4,2	4,4	4,6	4,7
	82	2,4	2,6	2,8	3,0	3,2	3,4	3,6	3,7	3,9	4,1	4,2	4,4	4,5
	86	2,3	2,5	2,7	2,9	3,1	3,3	3,5	3,6	3,8	3,9	4,1	4,2	4,3
	91	2,3	2,5	2,7	2,8	3,0	3,2	3,3	3,5	3,7	3,8	3,9	4,1	4,2
	96	2,2	2,4	2,6	2,8	2,9	3,1	3,2	3,4	3,5	3,7	3,8	3,9	4,1
	100	2,2	2,4	2,5	2,7	2,9	3,0	3,2	3,3	3,4	3,6	3,7	3,8	3,9

2.3.6 Ermittlung des Duke-Score

Mit Hilfe einer Umrechnungstabelle (siehe Kapitel 2.3.5) übertrugen wir die in Watt gemessene maximale Leistung abhängig von Geschlecht und Körpergewicht der Patienten in METs, so dass unter Verwendung des in Abbildung 11 verkleinert dargestellten Standard-Nomogramms der Duke-Score ermittelt werden konnte.

Hierzu wurden die belastungsinduzierte maximale ST-Strecken-Senkung und die Schwere der belastungsinduzierten Angina pectoris auf der linken Seite des Nomogramms verbunden. Der Kreuzungspunkt auf der Ischämie-Kennlinie wurde mit der Maximalbelastung in METs verbunden. Es resultierte auf der Score-Skala eine prognostische Angabe, die die 5-Jahres-Überlebensrate bzw. die durchschnittliche jährliche Mortalität an kardialen Ereignissen darstellte. Für unsere weitere statistische Auswertung verwendeten wir die 5-Jahres-Überlebensrate als metrischen Wert.

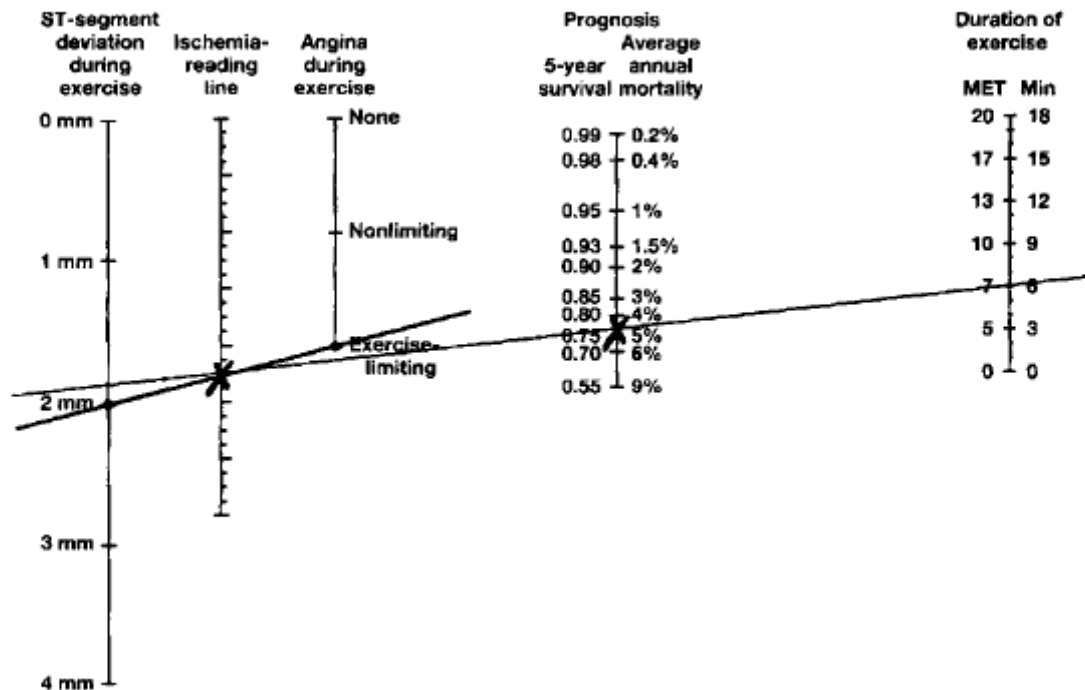


Abbildung 11: Bestimmung des Duke-Scores am Nomogramm (adaptiert nach Fletcher (18) und Mark (43)). Ein Anwendungsbeispiel ist eingetragen: Ein Patient mit einer maximalen ST-Streckensenkung von 2mm (0,2mV), nicht-belastungslimitierender Angina pectoris und einer Leistungskapazität von 7 METs hat demnach eine zu erwartende Mortalität pro Jahr von 4,5% oder eine 5-Jahres-Überlebenswahrscheinlichkeit von 0,775.

2.4 Statistische Auswertung

2.4.1 Datenerfassung und verwendete Software

Nach Erfassung der Daten in Papierform erfolgte die doppelt geprüfte Übertragung in eine Datenbank, die erste explorative Datenanalyse wurde mit SPSS (Version 13.0, Evaluierungsversion für Windows) vorgenommen. Grafiken und auswertende Tabellen wurden ebenfalls mit SPSS erstellt.

Alle statistischen Testverfahren wurden mit StatXact Version 4.0.1 (Cytel Software) durchgeführt.

Planung und Durchführung der statistischen Auswertung erfolgten in Zusammenarbeit mit dem Institut für Medizinische Informatik, Biometrie und Epidemiologie des Universitätsklinikums Essen.

2.4.2 Auswahl der statistischen Testverfahren

Da die meisten der erfassten Variablen nicht normalverteilt waren und/oder keine Varianzenhomogenität aufwiesen, waren die Voraussetzungen für eine Varianzanalyse nicht gegeben.

Von den in Frage kommenden nichtparametrischen Tests wählten wir für metrische Variablen den Jonckheere-Terpstra-Test für Trends, für ordinalskalierte/dichotome Variablen den Cochran-Armitage-Test. Der Ausdruck „Trend“ bezeichnet im Folgenden somit keinen „Trend zur Signifikanz“, also keine Aussage über den p-Wert, sondern einen gerichteten genetischen Effekt über die Genotypen hinweg.

Wegen der für statistische Zwecke relativ geringen Patientenzahl, insbesondere der geringen Zahl homozygoter Träger des T-Allels, wurden die exakten Testwerte durch Permutationstests (Monte-Carlo-Methode) basierend auf einer Sample Size von 10.000 ermittelt.

2.4.2.1 Das Verfahren nach Jonckheere-Terpstra

Bezüglich mathematischer Darstellung des Testverfahrens für geordnete Alternativen verweisen wir auf entsprechende Literatur, z.B. Brunner 2002, S. 119ff. (6).

Der Vorteil der Jonckheere-Terpstra-Statistik gegenüber der bekannteren, globalen Kruskal-Wallis-Statistik ist die höhere Empfindlichkeit der J-T-Statistik für geordnete Alternativen, falls das vermutete oder ein sehr ähnliches Muster von Alternativen vorliegt (vgl. (6), S.123).

Übliche Statistik-Programme wie StatXact geben auch bei diesem Test einen zweiseitigen p-Wert aus, obwohl dessen Angabe in der Regel wenig Sinn macht, da Tests für geordnete Alternativen grundsätzlich einseitig zu verstehen sind und zweiseitige p-Werte kaum sinnvoll interpretiert werden können (6). Aus diesem Grund haben wir stets die einseitigen, exakten p-Werte für unsere Untersuchungen übernommen.

2.4.2.2 Das Verfahren von Cochran-Armitage

Für Informationen zur Test-Statistik sei hier ebenfalls auf mathematische Literatur verwiesen, z.B. Neuhäuser 2002 (56).

Beim Verfahren von Cochran-Armitage handelt es sich um einen typischen Trendtest für Genotyp-Verteilungen in Case-Control-Studien. Von uns wurde er in Bezug auf Fragestellungen verwendet, die eine dichotome Aufteilung verlangten, z.B. Vorhandensein arterieller Hypertonie in den

Ausprägungen *ja* oder *nein*. Es wurden immer sowohl der asymptotische, als auch der exakte p-Wert berechnet, da bei relativ geringer Homozygotenzahl exakte Tests bevorzugt werden sollten. Der exakte Cochran-Armitage-Trendtest ist allerdings sehr konservativ, d.h. er verliert zugunsten einer guten Kontrolle des Typ I-Fehlers an Power (56), so dass der zusätzlich angegebene asymptotische p-Wert, der leicht antikonservativ ist, im Zweifelsfall ($p \approx 0,05$) eine Orientierungshilfe bietet.

Auf die in der Literatur häufig zu beobachtende Analyse nach Allelen, nicht nach Genotyp, haben wir verzichtet, da die allelische Auswertung keinen Vorteil bietet, sondern im Gegenteil anfälliger ist gegenüber Abweichungen vom Hardy-Weinberg-Gesetz, so dass von ihrer Anwendung abgeraten wird (76).

3 Ergebnisse

3.1.1 Überprüfung des Hardy-Weinberg-Gesetzes in der Population

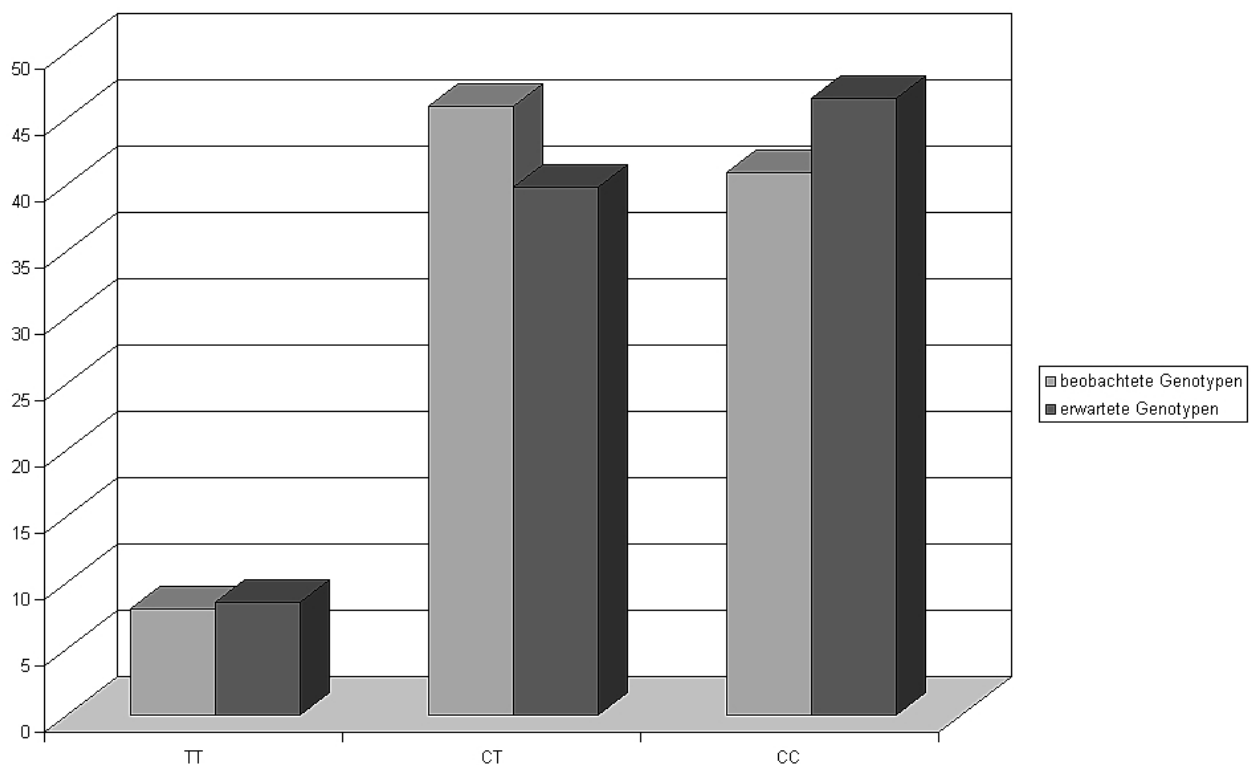


Abbildung 12: Beobachtete und erwartete Verteilung der Genotypen

Die Verteilung der Genotypen im Patientenkollektiv zeigte $n(CC)=41$, $n(CT)=46$, $n(TT)=8$, was einer Allelfrequenz von $f(T) \approx 0,33$ entspricht.

Unter der Annahme, dass die in der Stichprobe beobachtete Allelfrequenz von $f(T)_{\text{BEOB}}=0,33$ der tatsächlichen Allelfrequenz in dieser Population entspricht, wäre die erwartete Verteilung der Genotypen nach dem Hardy-Weinberg-Gesetz wie folgt:

$$N(CC)=42,6, N(CT)=42, N(TT)=10,3$$

Unter der Annahme hingegen, dass der in der Literatur für die deutsche Bevölkerung im Durchschnitt angegebene Wert von $f(T)_{\text{LIT}}=0,30$ der in der Grundgesamtheit eigentlich zutreffende ist, ergibt sich die erwartete Verteilung von:

$$N(CC)=46,55, N(CT)=39,90, N(TT)=8,55$$

Da in dieser Untersuchung aufgrund der relativ geringen Stichprobengröße nicht definitiv zu entscheiden war, welche Allelfrequenz in einer Essener Population zutrifft, wurde ein χ^2 -Test für beide Allelfrequenzen berechnet. In beiden Tests zeigte sich keine signifikante Abweichung der beobachteten von der erwarteten Genotypenverteilung ($p=0,45$ für $f(T)_{\text{LIT}}=0,30$ und $p=0,63$ für $f(T)_{\text{BEOB}}=0,33$).

Die hohen p-Werte unterstützten für beide Fälle die Annahme, dass die Population sich ausreichend im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht befand.

3.1.2 Prävalenz konventioneller Risikofaktoren im Patientenkollektiv

Die konventionellen Risikofaktoren fortgeschrittenes Lebensalter, Hyperlipoproteinämie, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Rauchen und positive Familienanamnese waren in unserer Stichprobe sehr verbreitet. Die meisten Patienten (46,3%) hatten drei konventionelle Risikofaktoren; kein Patient hatte alle sechs genannten, aber auch keiner null Risikofaktoren (Abbildung 13). In der Verteilung der Art der Risikofaktoren ähnelten sich die Genotypen, besonders fortgeschrittenes Alter, Hyperlipoproteinämie und Hypertonie waren stark vertreten (Abbildung 14).

Im Risikofaktor-Profil zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Genotypen ($p=0,444$). Auf geeignete, potentiell mit dem C825T-Polymorphismus assoziierte Risikofaktoren wird in den folgenden Abschnitten separat eingegangen; eine genauere Aufschlüsselung der Merkmale unserer Stichprobe findet sich im Anhang (siehe Abschnitt 7.1, Übersicht 1).

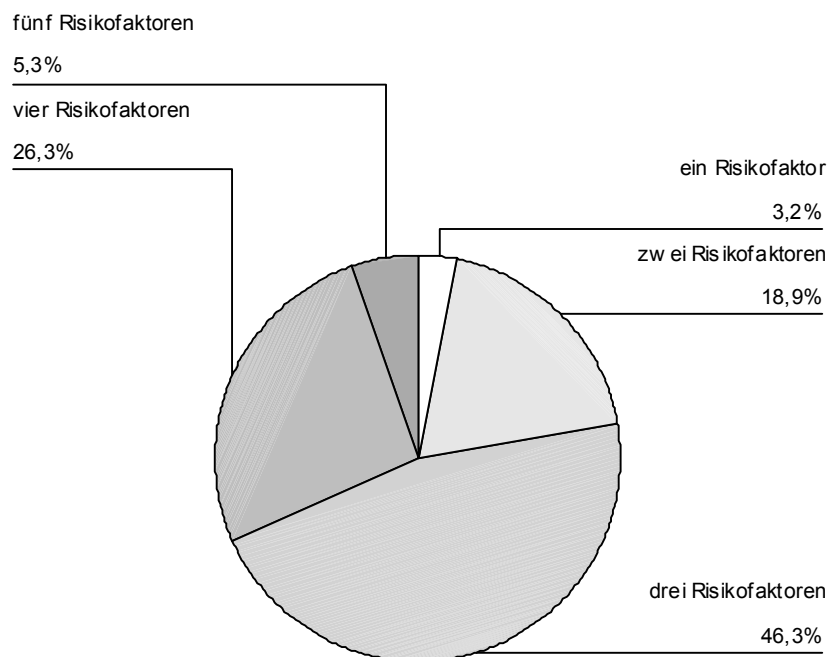


Abbildung 13: Aufteilung der Stichprobe nach der Summe an konventionellen Risikofaktoren der einzelnen Patienten

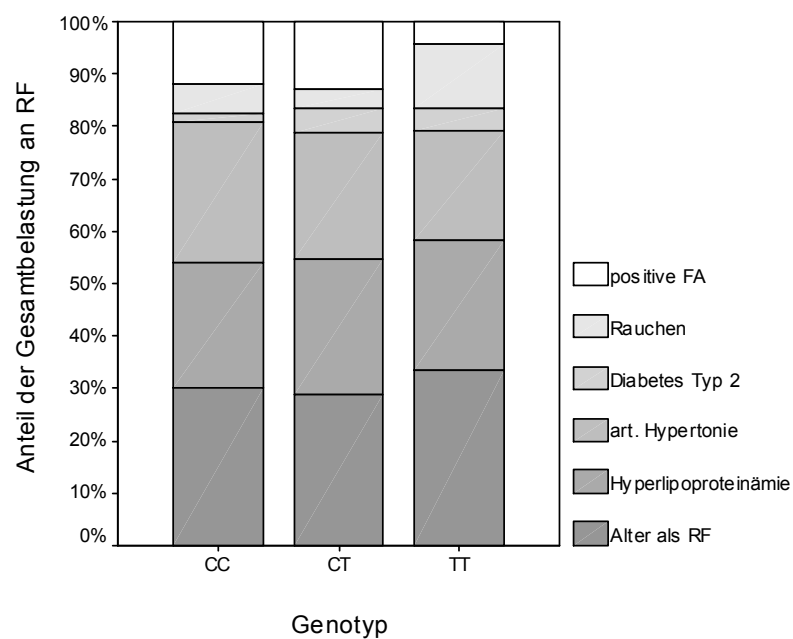


Abbildung 14: Relativer Anteil der einzelnen konventionellen Risikofaktoren an der Gesamtbelastung der jeweiligen Genotypen

3.2 Assoziation des GNB3 C825T-Polymorphismus mit Risikofaktoren der KHK

3.2.1 Untersuchung für arterielle Hypertonie

Insgesamt 77,9% der Patienten unserer Stichprobe erfüllten die hier verwendete Definition der arteriellen Hypertonie, d. h. sie hatten in Ruhe Blutdruckwerte von mindestens 140 mmHg systolisch, 90 mmHg diastolisch, oder nahmen ein typisches antihypertensives Medikament bzw. einen Betablocker ein. In der Medikamenteneinnahme unterschieden sich die Genotypen nicht signifikant (vergleiche Abschnitt 3.3.2).

Der relative Anteil an Hypertonikern war mit 82,9% beim CC-Genotyp größer als bei CT mit 76,1% und dort wiederum größer als bei TT (62,5%) (Tabelle 12 und Abbildung 15). Diese Werte waren jedoch nicht signifikant; der Test für eine Assoziation von Hypertonie und GNB3 erzielte $p=0,3105$.

Tabelle 12: Vorhandensein von arterieller Hypertonie, aufgeteilt nach Genotyp

			Genotyp			Gesamt
			CC	CT	TT	
art. Hypertonie (RR \geq 140/90 oder Med.)	nein	Anzahl	7	11	3	21
		Zeilen%	33,3%	52,4%	14,3%	100,0%
		Spalten%	17,1%	23,9%	37,5%	22,1%
	ja	Anzahl	34	35	5	74
		Zeilen%	45,9%	47,3%	6,8%	100,0%
		Spalten%	82,9%	76,1%	62,5%	77,9%

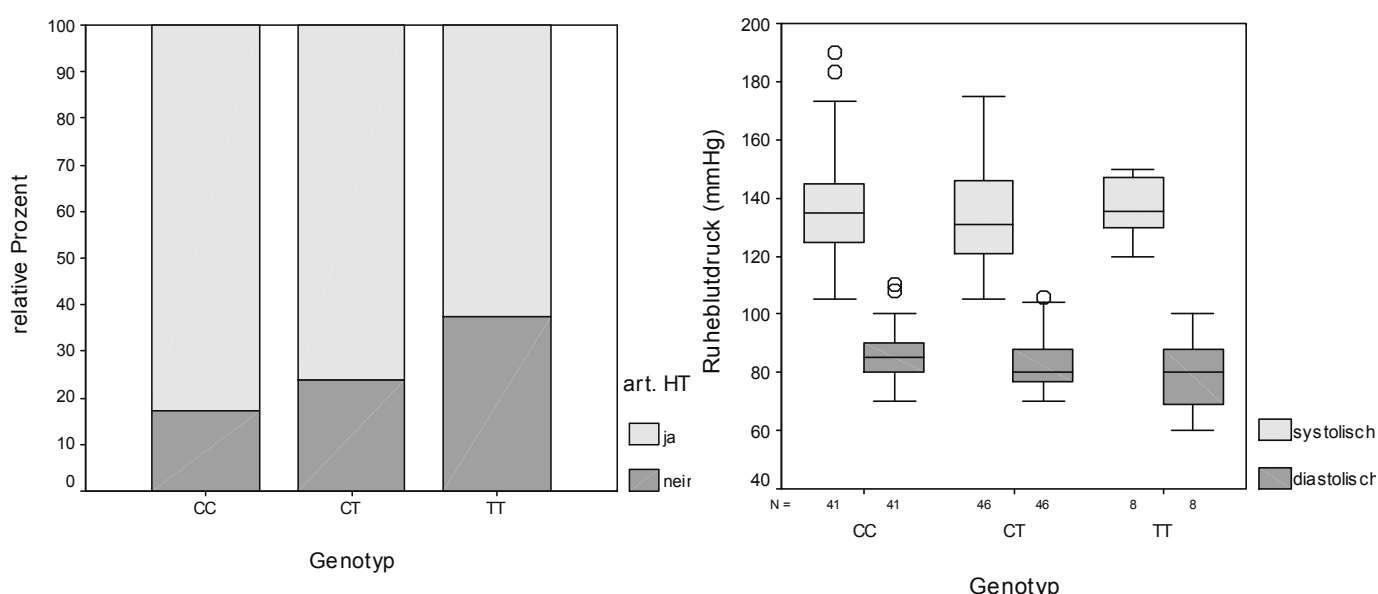


Abbildung 15: Veranschaulichung des hohen Prozentsatzes an Hypertonikern sowie Lagemaße von systolischen und diastolischen Ruhe-Blutdruckwerten in den Genotypen

Bei näherer Betrachtung zeigte sich, dass der diastolische Ruheblutdruck der T-Allelträger signifikant niedriger war ($p=0,0195$), es zeigte sich ein fallender Trend über die Genotypen hinweg (Abbildung 15). Eine Assoziation des diastolischen Blutdruckwerts mit der Einnahme von Antihypertensiva fand sich dabei nicht ($p=0,2937$), die mittleren systolischen und diastolischen Ruheblutdruckwerte von Patienten mit antihypertensiver Medikation unterschieden sich nicht signifikant von denen unbehandelter Patienten ($p_{\text{diastolisch}}=0,2937$, siehe oben; $p_{\text{systolisch}}=0,4713$), genaue Lagemaße nennt Tabelle 13. Im Gegensatz zum diastolischen Ruhewert war der systolische Blutdruck zwischen den Genotypen nicht verschieden ($p=0,4759$). Die Allelfrequenz $f(T)$ betrug im hypertensiven Anteil der Stichprobe 0,30, im normotensiven Anteil $f(T)=0,36$.

Tabelle 13: Lagemaße der Ruhe-Blutdruckwerte der Genotypen, aufgeteilt nach Einnahme von Antihypertensiva (hier einschließlich Betablockern)

		Genotyp						Gesamt
		CC		CT		TT		
		Antihypertensiva		Antihypertensiva		Antihypertensiva		
		nein	ja	nein	ja	nein	ja	
Systolischer Ruhewert (mmHg)	Mittelwert	137	137	137	136	134	139	137
	Standard-abweichung	20	18	19	18	3	13	18
Diastolischer Ruhewert (mmHg)	Mittelwert	86	87	84	83	79	79	84
	Standard-abweichung	10	9	10	8	8	16	10

3.2.2 Untersuchung für den Body-Mass-Index (BMI)

Im gesamten Patientenkollektiv waren 38,9% der Untersuchten normgewichtig ($\text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$), 23,2% übergewichtig ($\text{BMI} \geq 25$ und $\leq 27 \text{ kg/m}^2$) und 37,9% adipös ($\text{BMI} > 27 \text{ kg/m}^2$).

Bei einem mittleren BMI der Stichprobe im übergewichtigen Bereich ($26,48 \text{ kg/m}^2$) unterschieden sich die Genotypen in ihren jeweiligen Mittelwerten kaum, ein Trend war nicht erkennbar ($p=0,4407$). Auch nach Stratifizierung des BMI in „normgewichtig“, „übergewichtig“ und „adipös“ nach oben genannter Definition ergab sich keine signifikante Assoziation für die Zugehörigkeit der Genotypen zu den einzelnen Klassen ($p=0,4869$) (Tabelle 14).

Abbildung 16 veranschaulicht die im Mittelwert fast gleiche Lage der Genotypen und stellt die relative Verteilung der Gewichtsklassen je Genotyp dar.

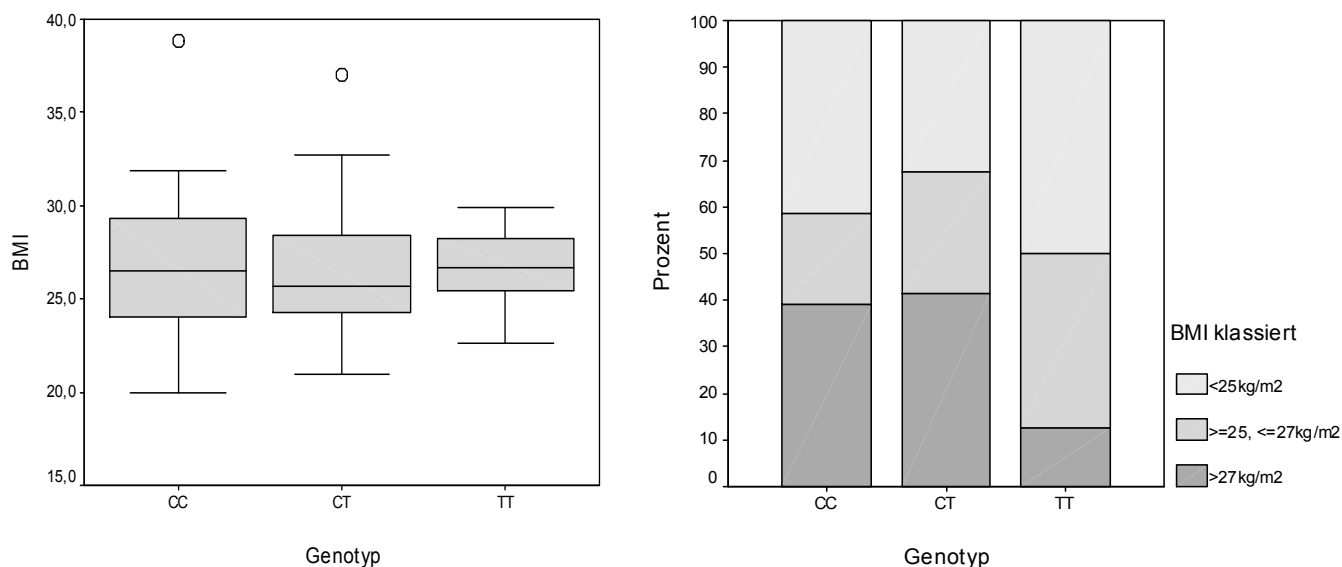


Abbildung 16: Lagemaße des Body-Mass-Index in den Genotypen, dargestellt als Boxplot, und Verteilung von Normgewicht, Übergewicht und Adipositas je Genotyp

Tabelle 14: Übersicht der Lagemaße des Body-Mass Index sowie der Anzahl von Patienten in den BMI-Klassen, unterschieden nach Genotyp

		Genotyp			Gesamt
		CC	CT	TT	
BMI	Mittelwert	26,68	26,26	26,65	26,48
	Standardabw.	3,71	3,25	2,32	3,37
BMI-Klasse	<25	16	19	1	36
	25-27	8	12	3	23
	>27	17	15	4	36

3.2.3 Untersuchung für Diabetes mellitus

Bei 10 Patienten unserer Stichprobe war ein Diabetes mellitus Typ 2 vorbekannt. Zwei Patienten hatten den Genotyp CC, sieben CT und ein Patient TT (Tabelle 15). Der heterozygote Genotyp war deutlich stärker repräsentiert (Abbildung 17), ein signifikantes Testergebnis resultierte daraus jedoch nicht, $p=0,1480$.

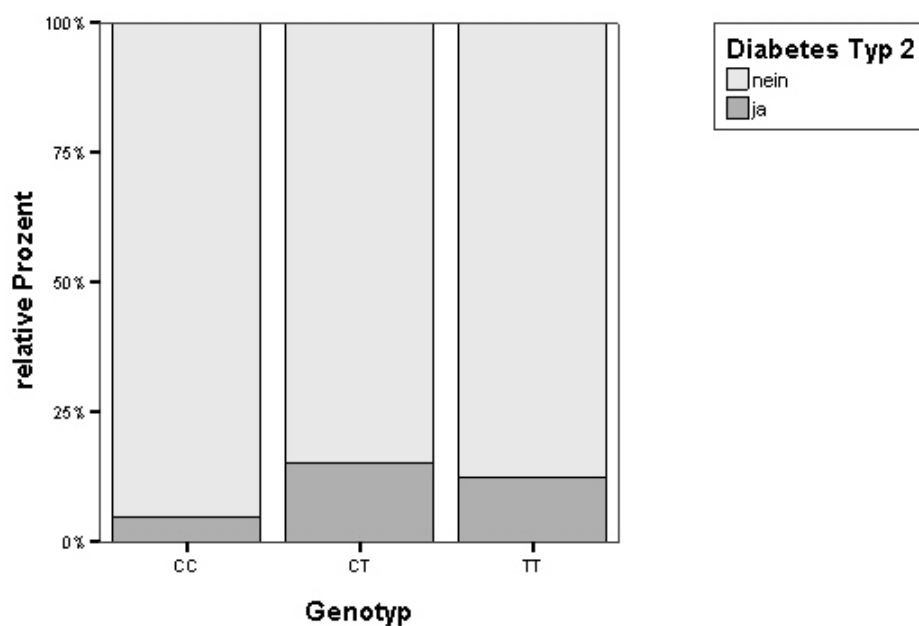


Abbildung 17: relativer Anteil an Typ 2-Diabetikern in den Genotypen

Tabelle 15: Anzahl an Typ 2-Diabetikern in den Genotypen

		Diabetes mellitus Typ 2		Gesamt
		nicht bekannt	bekannt	
Genotyp	CC	39	2	41
	CT	39	7	46
	TT	7	1	8
Gesamt		85	10	95

3.2.4 Untersuchung für koronare Ereignisse in der Familienanamnese

Insgesamt berichteten 35 Patienten über eine familiäre Belastung mit koronarer Herzkrankheit, d.h. das Auftreten von Myokardinfarkten bei Verwandten 1. Grades vor deren 60. Lebensjahr. Die Verteilung zwischen den Genotypen zeigt Tabelle 16.

Es ergab sich keine Assoziation des Genotyps der Patienten mit der erfragten Familienanamnese ($p=0,3272$).

Tabelle 16: Verteilung (anamnestischer) familiärer KHK-Belastung zwischen den Genotypen

		Genotyp		
		CC	CT	TT
Familienanamnese	negativ	26	27	7
	positiv	15	19	1

3.3 Assoziation mit Ergebnissen des Belastungs-EKG

3.3.1 Verlauf der Ergometrie: Belastungsdaten

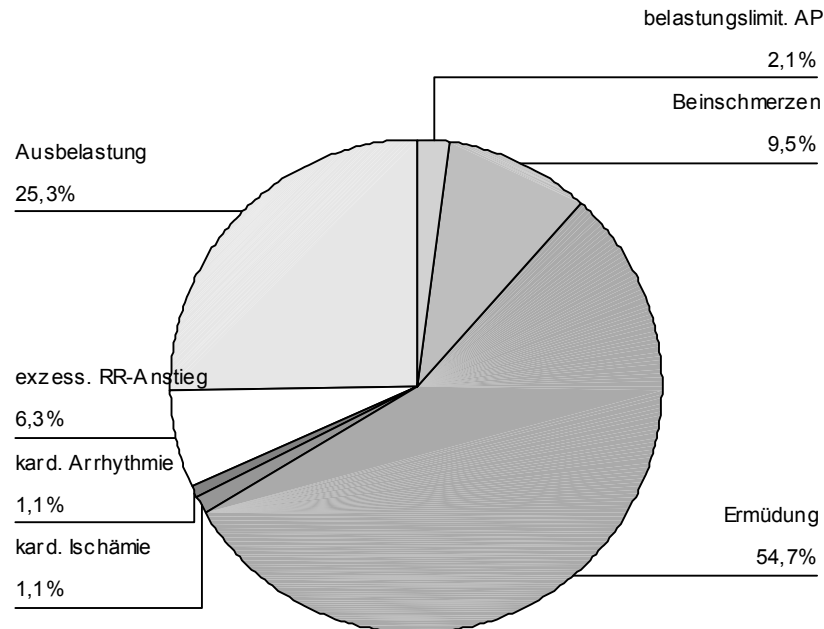


Abbildung 18: Verteilung der Abbruchgründe in der Gesamtstichprobe

Eine Übersicht der Gründe für den Belastungsabbruch in der Gesamtstichprobe gibt Abbildung 18. Angina pectoris wurde während der Belastung von fünf Patienten angegeben, war jedoch nur bei zwei davon belastungslimitierend. Bei einem Patienten wurde die Belastung durch den Arzt wegen deutlicher Ischämiezeichen abgebrochen, bei einem Untersuchten wegen zunehmender kardialer Arrhythmien, bei sechs Personen wegen exzessiven Blutdruckanstiegs, und bei 24 wegen Ausbelastung. Die übrigen 61 Probanden brachen auf eigenen Wunsch wegen Beinbeschwerden oder Ermüdung die Ergometrie ab (Tabelle 17, s. nächste Seite).

Aufgrund der jeweils geringen Patientenzahl wurden Abbrüche wegen limitierender Angina pectoris, Ischämie, Arrhythmie und exzessiven Blutdruckanstiegs zur Auswertung zusammengefasst; es war keine Assoziation zwischen diesen außergewöhnlichen Abbruchgründen und dem Genotyp nachweisbar ($p=0,1480$). Auch für ein Belastungsende bei Ausbelastung ergab der Trendtest einen deutlich nicht signifikanten Wert ($p=0,5207$).

Bei der Fahrradergometrie erreichten oder überschritten 48 Patienten (entsprechend 50,53% der Untersuchten) die submaximale Belastungsgrenze von 85% der maximalen Herzfrequenz. Der durchschnittlich erreichte Anteil der erwarteten maximalen Herzfrequenz betrug 84%. Für diesen Wert als Grad der Ausbelastung ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen ($p=0,4617$). Auch nach Aufteilung der Belastungen in Erreichen und Nichterreichen der 85%-Schwelle fand sich keine Assoziation zum Genotyp ($p=0,3518$).

Tabelle 17: Abbruchgründe der Belastungsuntersuchung und ihre Verteilung auf die Genotypen

	Genotyp			Gesamt
	CC	CT	TT	
Belastungslimitierende Angina pectoris	0	1	1	2
Beinschmerz	3	4	2	9
Ermüdung	25	25	2	52
Kardiale Ischämie	0	0	1	1
Kardiale Arrhythmie	1	0	0	1
Exzessiver Blutdruck-Anstieg	2	4	0	6
Ausbelastung	10	12	2	24

Für die Herzfrequenz ergab sich hinsichtlich des Ruhewerts, des Maximum unter Belastung und des Drei-Minuten-Erholungswerts keine Assoziation zum Genotyp (p alle nicht signifikant).

Im Blutdruckverhalten zeigt sich der in Abschnitt 3.2.1 genannte signifikant erniedrigte diastolische Ruhewert in Zusammenhang mit dem T-Allel; auch in der dritten Erholungsminute ist eine Tendenz zur Signifikanz ($p=0,071$) in gleicher Richtung erkennbar. Ein signifikanter Trend in den Blutdruckveränderungen unter Belastung ist zwischen den Genotypen nicht zu verzeichnen.

Auf die Besonderheiten der Leistungsparameter wird in Abschnitt 3.3.3 gesondert eingegangen. Die deskriptiven Statistiken des Belastungsverlaufs finden sich im Anhang (Abschnitt 7.1, Übersicht 2).

3.3.2 Einnahme von Medikamenten mit möglicher Beeinflussung des Belastungsverlaufs

In den Genotypen CC, CT, TT nahmen 22,0%, 23,9% bzw. 12,5% der Patienten eine antihypertensive Medikation außer Betablockern ein (Tabelle 18 und Abbildung 19). Wegen ihrer besonderen Bedeutung für die Ergometrie wurden Betablocker getrennt erfasst: 39,0%, 30,4% bzw. 50,0% der Patienten in den jeweiligen Genotypen befanden sich unter Behandlung mit Betablockern, hierin unterschieden sich die Genotypen nicht signifikant ($p=0,5436$). Auch bei der Einnahme sonstiger antihypertensiver Medikamente (d.h. Vorhandensein einer solchen Medikation) ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Genotypen ($p=0,3698$).

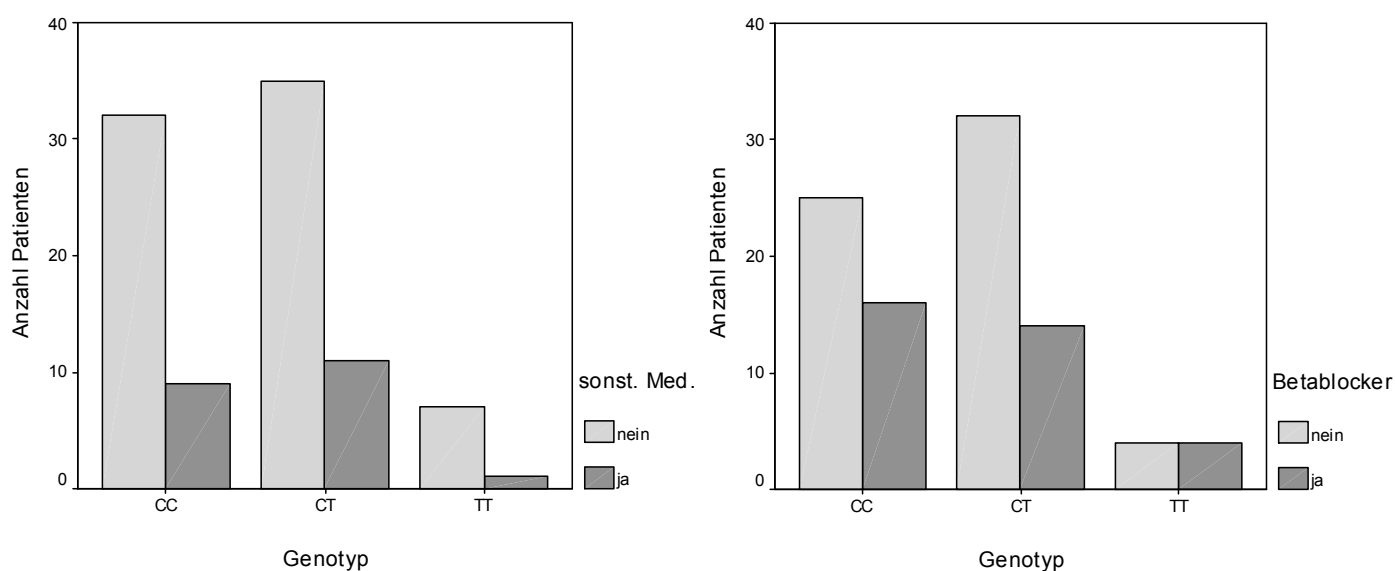


Abbildung 19: Einnahme von sonstigen Antihypertensiva und Betablockern, verteilt nach Genotypen

Tabelle 18: prozentuale Verteilung der Einnahme antihypertensiver Medikamente, Betablocker sind dabei gesondert aufgeführt

		Sonstige Antihypertensiva				Betablocker			
		Nein		Ja		Nein		Ja	
		Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%
Genotyp	CC	32	78,0%	9	22,0%	25	61,0%	16	39,0%
	CT	35	76,1%	11	23,9%	32	69,6%	14	30,4%
	TT	7	87,5%	1	12,5%	4	50,0%	4	50,0%

3.3.3 Assoziation mit Parametern der Leistungsfähigkeit

3.3.3.1 Maximalbelastung in Watt

Der Mittelwert der maximal erreichten Belastung in Watt betrug 147 ± 34 W für die gesamte Stichprobe mit einer Aufteilung von im Mittel 156 W für CC, 140 W für CT und 138 W für TT (vgl. Abschnitt 7.1, Übersicht 2). Man erkennt auch in Abbildung 21 eine fallende Tendenz der Maximalbelastung bei Vorhandensein eines oder zweier T-Allele.

Signifikante Unterschiede in Alter oder Geschlechterverteilung, die als Erklärung nahe liegend wären, bestehen zwischen den Genotypen nicht: Weder Alter ($p=0,0897$) noch Geschlechterverhältnis ($p=0,5574$) sind signifikant mit den Genotyp-Gruppen assoziiert. Der Trend einer abnehmenden maximalen Belastbarkeit über die Genotypen erschien in Abbildung 20 auch bei Aufschlüsselung nach Patientengruppen mit und ohne Einnahme eines Betablockers deutlich: Patienten unter Betablocker erreichten im Durchschnitt einen niedrigeren Belastungswert bei CC und CT, die Werte für TT waren mit und ohne Betablockermedikation gleich.

Der mit dem T-Allel assoziierte fallende Trend war in der Gesamtpopulation und in der Untergruppe ohne Betablocker stark signifikant ($p=0,0139$ bzw. $0,0178$). In der Untergruppe mit Betablocker-Medikation hatten Heterozygote zwar deutlich verminderte Belastungswerte, der Trend wurde aber durch den TT-Genotyp durchbrochen ($p=0,1602$).

Es fand sich somit für die Gesamtstichprobe und für die Untergruppe der Patienten ohne Betablocker-Medikation ein hoch signifikanter Zusammenhang zwischen der maximal erreichten Belastungsstufe in Watt und dem Genotyp.

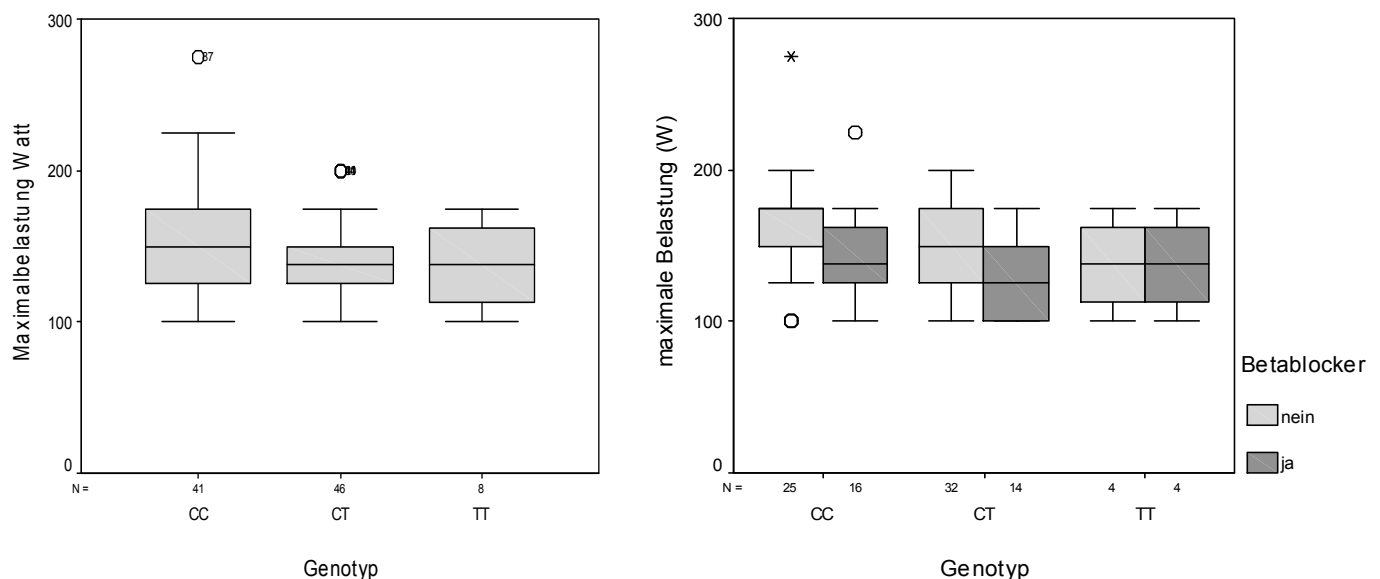


Abbildung 20: Lagemaße der Maximalbelastung in Watt, nach Genotypen und Betablockereinnahme

Abbildung 21 zeigt ein Streudiagramm, bei dem die Maximalbelastung in Relation zum Alter der Patienten aufgetragen ist. Die Punktwolken der Genotypen sind durch verschiedene Symbole dargestellt; unter Annahme eines linearen Zusammenhangs zwischen Leistung und Alter sind die Regressionsgeraden eingezeichnet. Die Abbildung verdeutlicht die unterschiedliche Verteilung der Werte zwischen den Genotypen; es ergeben sich deutlich getrennte, fast parallele Geraden der Genotypen CC und CT.

Der Genotyp TT wird in Abbildung 21 nur durch 8 Punkte repräsentiert, was die Bestimmung der Geraden erschwert, weshalb Abbildung 22 nur nach gepoolten Allelen, d. h. CC gegen CT/TT, unterscheidet.

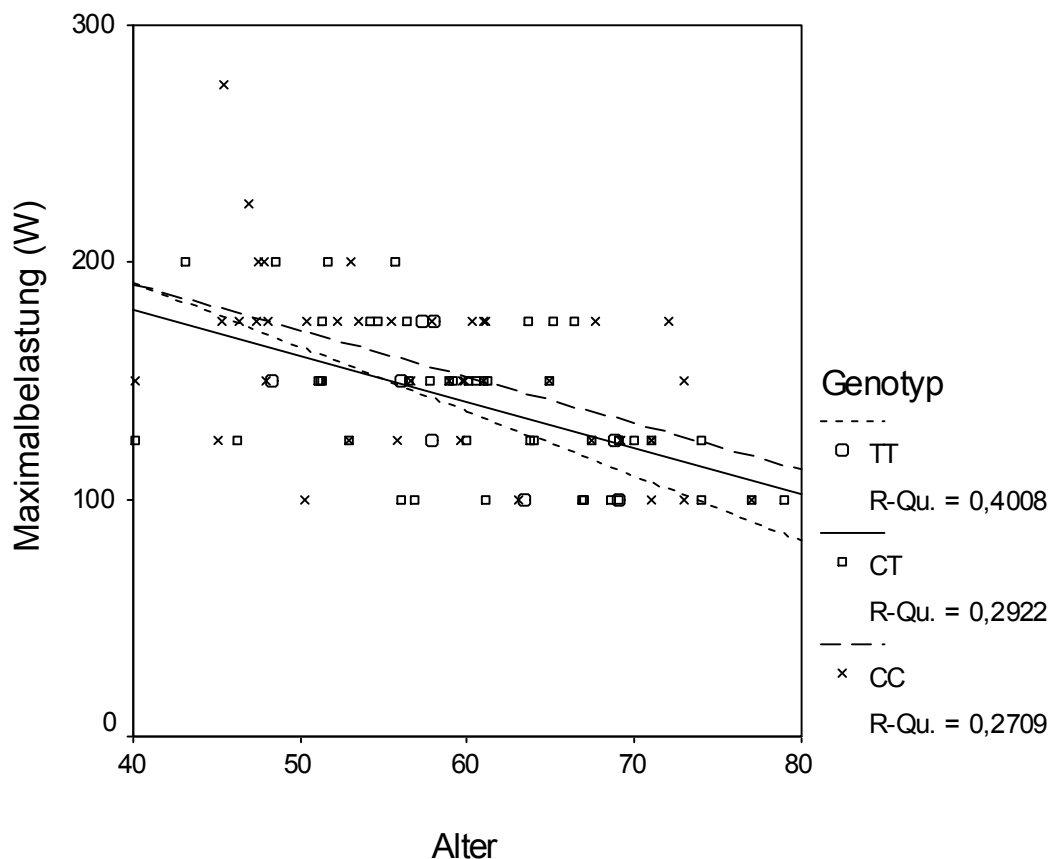


Abbildung 21: Regressionsgeraden von Maximalbelastung und Alter getrennt nach Genotyp

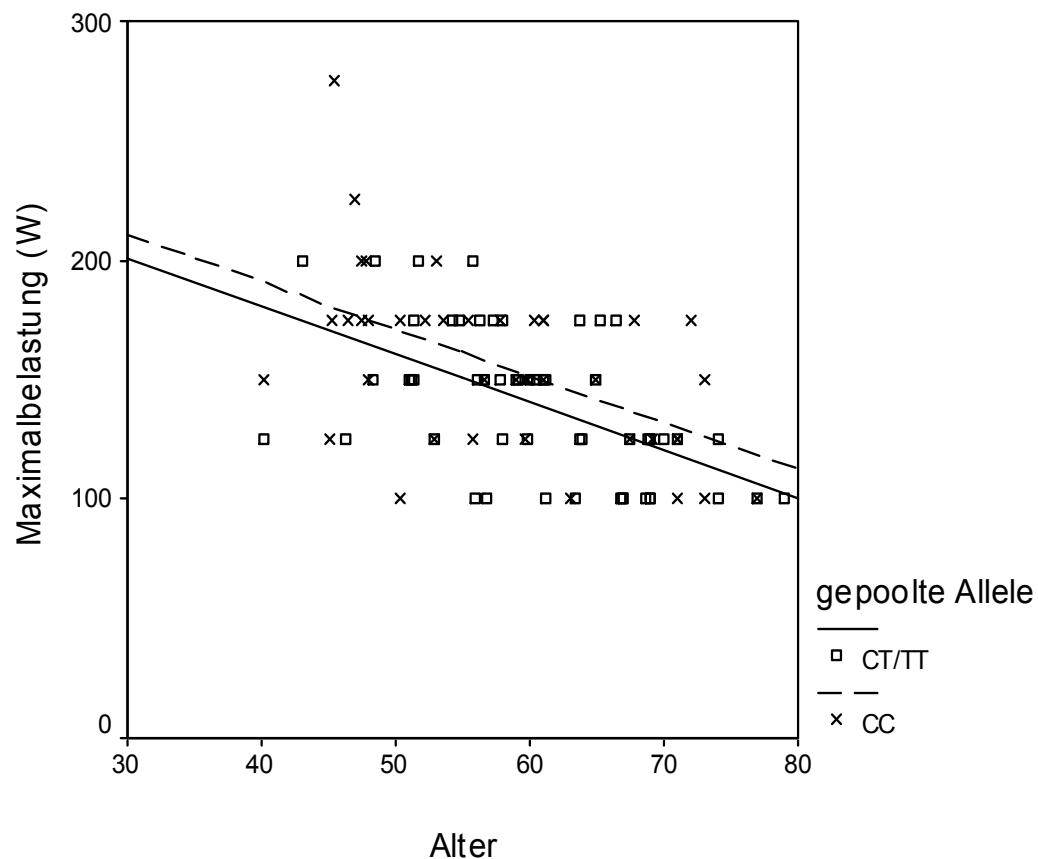


Abbildung 22: Regressionsgeraden reduziert auf gepoolte Allele (CC vs. CT/TT)

3.3.3.2 Physical Work Capacity (PWC 130)

3.3.3.2.A Leistung (Physical Work) bei vorgegebener Herzfrequenz

Die zur Berechnung der PWC130 (siehe Abschnitt C) ermittelte PW 130 stellt die Belastung in Watt dar, bei der die einzelnen Patienten eine Herzfrequenz von 130/min hatten.

Die Gruppen erreichten jeweils im Mittel 154 (CC), 129 (CT) und 133 (TT) Watt (Abbildung 23); es war eine hoch signifikante Assoziation des T-Allels mit der erreichten Leistung bei gegebener Herzfrequenz erkennbar ($p=0,0082$).

In diesen Test gingen methodenbedingt nur die Patienten ein, die eine Herzfrequenz von mindestens 130/min erreichen konnten. Ein Teil der Patienten ($n=34$) war dazu nicht in der Lage, diese Untergruppe wurde daher gesondert ausgewertet.

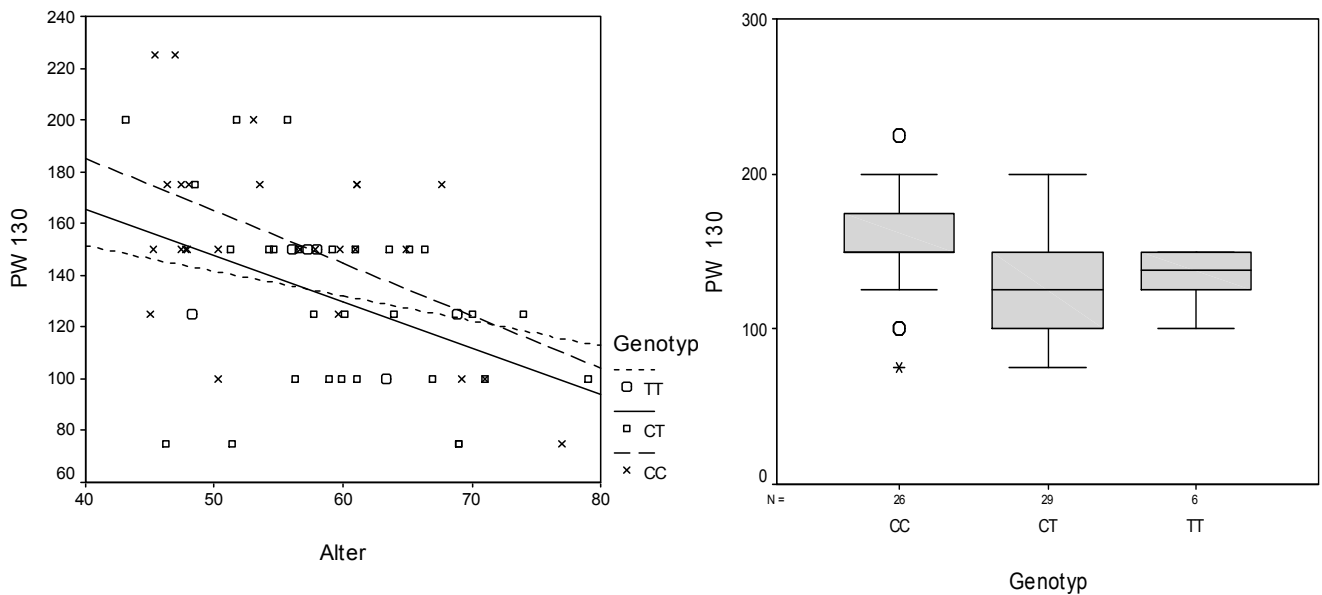


Abbildung 23: Leistung bei einer Herzfrequenz von 130/min (PW 130), Gegenüberstellung der Genotypen im Boxplot sowie in Relation zum Alter als Streudiagramm

3.3.3.2.B Auswertung der Subpopulation, die eine Herzfrequenz unter 130/min erreichte

Die getrennte Auswertung derjenigen Patienten, die nicht die oben geforderte Herzfrequenz von 130/min erreichten, sollte Hypothesen über das Auftreten einer derartigen chronotropen Inkompetenz testen. Mögliche Erklärungen beinhalteten insbesondere die Einnahme von Betablockern, höheres Alter und einen eventuellen Einfluss des GNB3-Genotyps.

Bei der Auswertung der 34 Patienten zeigte sich, dass keine signifikante Assoziation zwischen dem Polymorphismus und dem Vorhandensein chronotroper Inkompetenz bestand ($p=0,4096$), wohl aber, wie vermutet, ein höchst signifikanter Zusammenhang zwischen chronotroper Inkompetenz und der Einnahme von Betablockern ($p<0,0001$).

Die beiden Gruppen unterschieden sich außerdem signifikant ($p=0,0197$) im Alter, die chronotrop inkompetente Gruppe war im Mittel etwa sechs Jahre älter, das Durchschnittsalter betrug 61,81 Jahre ($\pm 9,59$) gegenüber 55,45 ($\pm 9,16$) Jahren.

Bei der weiteren Auswertung innerhalb der Gruppe mit unzureichender Maximalfrequenz unterschieden sich die Genotypen im Alter nicht signifikant ($p=0,4686$).

Innerhalb dieser Untergruppe bestätigte sich der in Abschnitt 3.3.3.1 für die Gesamtstichprobe beschriebene fallende Trend für die Maximalbelastung bei T-Allelträgerstatus ($p=0,0094$).

Zusätzlich waren hier aber auch die maximale Belastungsherzfrequenz ($p=0,0438$) und die Leistung in METs ($p=0,0365$) (vgl. Abschnitt 3.3.3.3) über die Genotyp-Gruppen signifikant verschieden (Abbildungen 24 und 25). Diesem Effekt lag auch in dieser Subgruppe kein signifikanter Trend bezüglich der Einnahme von Betablockern zugrunde ($p=0,5090$).

Bei den Patienten, die keine Herzfrequenz von 130/min erreichten, war mit dem T-Allel also nicht nur eine verminderte Belastbarkeit in Watt assoziiert, sondern darüber hinaus auch eine reduzierte Leistung in METs und eine verminderte maximal erreichte Herzfrequenz.

Wurde chronotrope Inkompetenz dagegen in der Definition verwendet, dass nicht mindestens 85% der altersgemäß erwarteten maximalen Herzfrequenz erreicht werden konnten, so fanden sich innerhalb der Subpopulation dieser nicht ausbelasteten Patienten zwischen den Genotypen nur signifikante Unterschiede bezüglich der Maximalbelastung in Watt ($p=0,0213$). Wie in der Gesamtstichprobe war das T-Allel bei den nicht ausbelasteten Patienten ebenfalls mit verminderter maximaler Leistung assoziiert, für die maximale Herzfrequenz zeigte sich in dieser Subgruppe ein Trend zur Signifikanz ($p_{\text{EXAKT}}=0,0624$, $p_{\text{ASYMPT}}=0,0572$). Die Belastung in METs war wie in der Gesamtpopulation zwischen den Genotypen nicht signifikant verschieden.

Tabelle 19: Auswertung der Subpopulation mit ungenügender Herzfrequenzbelastung ($<85\%$ HF_{max}) für die Genotypen, Übersicht der Belastbarkeit

(Subgruppe der Patienten mit ungenügender Ausbelastung)		Genotyp			Gesamt
		CC	CT	TT	
Maximale Belastung (W)	Mittelwert	151	133	125	141
	Standardabweichung	33	35	20	34
Maximale Belastungs-HF	Mittelwert	122	114	115	118
	Standardabweichung	12	18	15	15
Belastung in METs*10E-1	Mittelwert	66	62	61	64
	Standardabweichung	13	13	17	13

Tabelle 20: Subpopulation der Patienten mit einer maximal erreichten Herzfrequenz unter 130: Unterschiede zwischen den Genotypen hinsichtlich Alter und Belastbarkeit

(Subgruppe der Patienten mit maximaler Herzfrequenz unter 130/min)		Genotyp			Gesamt
		CC	CT	TT	
Alter (Jahre)	Mittelwert	61,75	61,67	63,45	61,81
	Standardabw.	9,59	9,39	7,85	9,15
max. Belastung (W)	Mittelwert	142	121	113	129
	Standardabw.	26	22	18	26
max. Belastungs-Herzfrequenz	Mittelwert	117	110	104	112
	Standardabw.	10	17	12	14
METs	Mittelwert	6,4	5,8	5,0	6,0
	Standardabw.	1,2	1,2	0,2	1,2

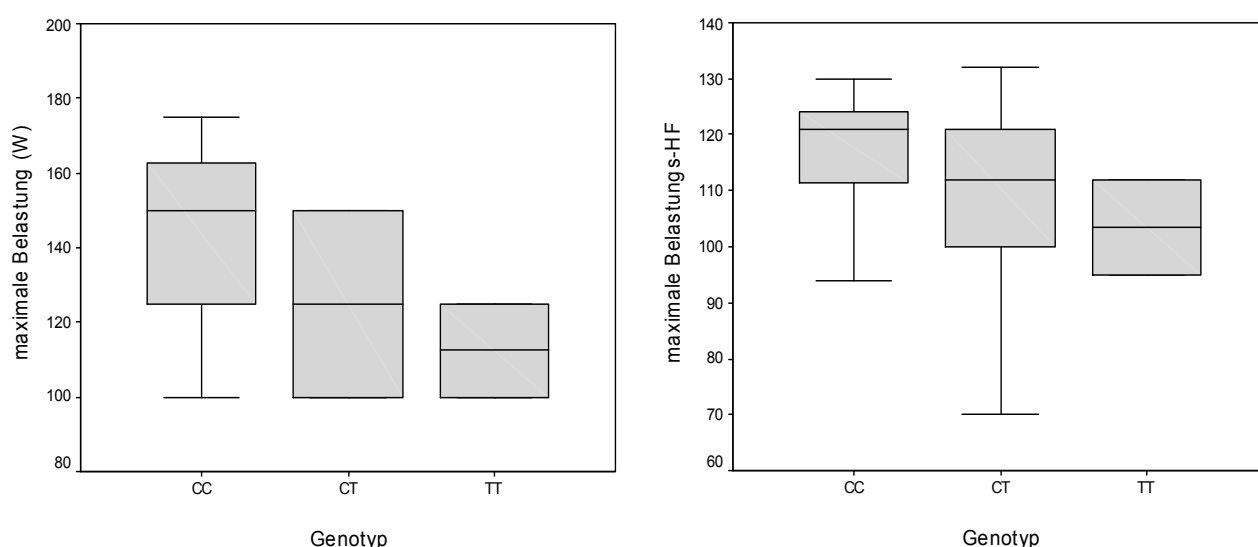


Abbildung 24: Boxplots der Trends für Maximalbelastung (W) und maximale Belastungs-HF

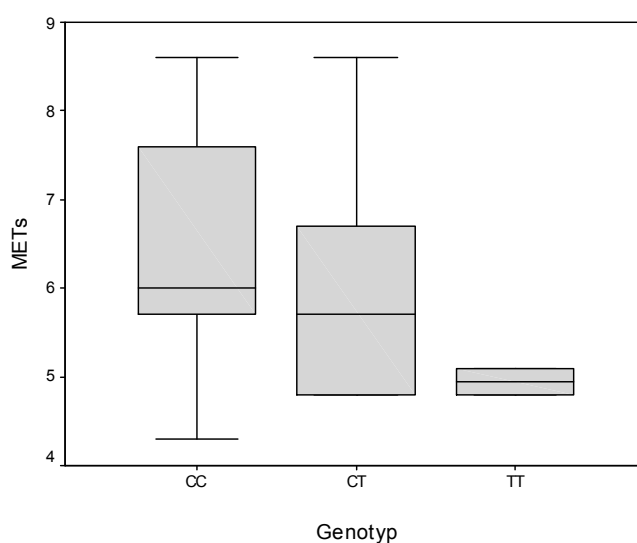


Abbildung 25: Boxplots der Belastbarkeit in METs im Vergleich der Genotypen

3.3.3.2.C PWC 130: Leistungskapazität in W/kg bei Herzfrequenz 130/min

Bei Ermittlung der Leistungskapazität in Watt pro Kilogramm Körpergewicht, ausgehend von der bei einer Herzfrequenz von 130/min erbrachten Leistung, ergaben sich für die Genotypen Mittelwerte von CC=1,81 W/kg, CT=1,56 W/kg und TT=1,73 W/kg. Der fallende Trend (Abbildung 26) war hier mit $p=0,0360$ ebenfalls signifikant. Der BMI der Genotyp-Gruppen war fast identisch, hinsichtlich Körpergewicht und Größe bestanden aber Unterschiede, was in die Interpretation der gewichtsbezogenen Leistung einbezogen werden musste: Träger des T-Allels waren tendenziell leichter, dieser Trend erreichte jedoch keine Signifikanz ($p=0,0817$).

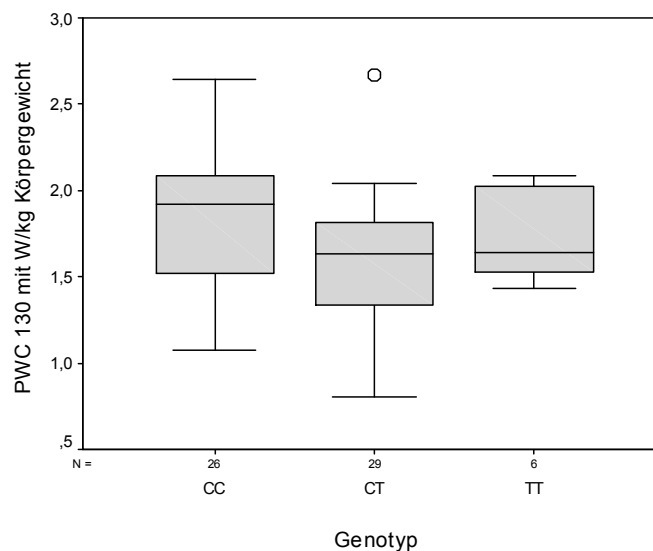


Abbildung 26: Boxplot der Physical Work Capacity bei einer Herzfrequenz von 130/min

Tabelle 21: Gegenüberstellung der Genotypen bezüglich PW 130, PWC 130 (soweit diese erreicht wurden) und Nicht-Erreichen dieser Herzfrequenzschwelle

		Genotyp			Gesamt
		CC	CT	TT	
PW 130 (W)	Mittelwert	154	129	133	140
	Standardabw.	36	37	20	37
PWC 130 ermittelbar	nein	15	17	2	34
	ja	26	29	6	61
PWC 130 (W/kg)	Mittelwert	1,81	1,56	1,73	1,68
	Standardabw.	0,38	0,41	0,27	0,40

Tabelle 22: Übersicht der Genotypen hinsichtlich Größe, Gewicht und Body-Mass-Index in der Subpopulation, die mindestens eine Belastungsherzfrequenz von 130/min erreichte

(Subpopulation, bei der die PWC 130 ermittelbar war)			Genotyp		
			CC	CT	TT
Größe (cm)			181	177	173
Gewicht (kg)			86	84	78
BMI (kg/m²)			26,03	26,52	25,77
BMI-Klasse	1	N	15	12	1
		Genotyp %	57,7%	41,4%	16,7%
	2	N	2	8	3
		Genotyp %	7,7%	27,6%	50,0%
	3	N	9	9	2
		Genotyp %	34,6%	31,0%	33,3%

3.3.3.3 Metabolisches Äquivalent (MET)

Die umgerechneten Belastungswerte in METs für die verschiedenen Genotypen betrugen im Mittel $7,0 \pm 1,3$ METs für CC, $6,7 \pm 1,3$ METs für CT und $6,8 \pm 1,8$ METs für TT (Tabelle 23). Drei Patienten konnten in diese Berechnung nicht mit einbezogen werden, weil zwei Patienten (1xCT, 1xCC) durch Adipositas und ein Patient (CC) durch sehr hohe Leistungsfähigkeit aus den gängigen Tabellen herausfielen.

Wie Abbildung 27 durch die Boxplots nahe legt, war in den Mittelwerten der einzelnen Genotypen eine gering fallende Tendenz zu vermuten. Dieser Unterschied erreichte aber keine Signifikanz ($p=0,1522$).

Tabelle 23: Lagemaße der Belastbarkeit in Metabolischen Äquivalenten für die Genotypen

	Genotyp						Gesamt	
	CC		CT		TT		Mittelwert	Standard-abw.
	Mittelwert	Standard-abw.	Mittelwert	Standard-abw.	Mittelwert	Standard-abw.		
Belastung in METs	7,0	1,3	6,7	1,3	6,8	1,8	6,8	1,3

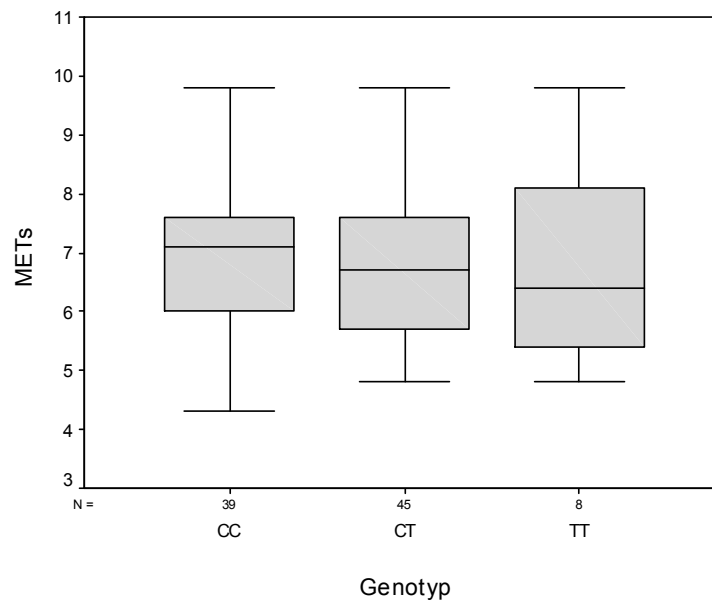


Abbildung 27: Boxplot der Belastbarkeit in METs im Vergleich der Genotypen

3.3.4 Assoziation mit Ischämiezeichen

3.3.4.1 Belastungsinduzierte Angina Pectoris-Beschwerden

Die Unterteilung von typisch pectanginösen Beschwerden während der Belastung wurde vorgenommen als 0=keine, 1=nicht-limitierende und 2=belastungslimitierende Beschwerden.

Die Träger des Genotyps CC waren als einzige völlig beschwerdefrei, im Genotyp CT traten bei 6,5% der Untersuchten nicht-limitierende und bei einem Untersuchten limitierende AP-Beschwerden auf. Auch ein Patient der Gruppe TT musste wegen limitierender Brustschmerzen die Belastung abbrechen (Tabelle 24).

Im exakten Trendtest (Jonckheere-Terpstra-Test für k unabhängige Stichproben) ergab sich ein signifikanter Wert von $p=0,0201$. Das T-Allel ist also auf signifikantem Niveau mit belastungsinduzierter Angina pectoris assoziiert.

Tabelle 24: Patientenzahl mit belastungsinduzierter Angina pectoris in den Genotypen

		Angina pectoris		
		keine	nicht-limitierend	belastungslimitierend
Genotyp	CC	41	0	0
	CT	42	3	1
	TT	7	0	1
Gesamt		90	3	2

3.3.4.2 Positiver Ischämie-Hinweis im EKG

Ein signifikanter, ischämietypischer EKG-Befund ergab sich bei 11 Patienten, entsprechend 11,6% der Untersuchten (Tabelle 25).

Hiervon besaßen 5 den Genotyp CC, 4 CT und 2 TT, ein signifikanter Trend über die Gruppen war nicht feststellbar ($p=0,25$).

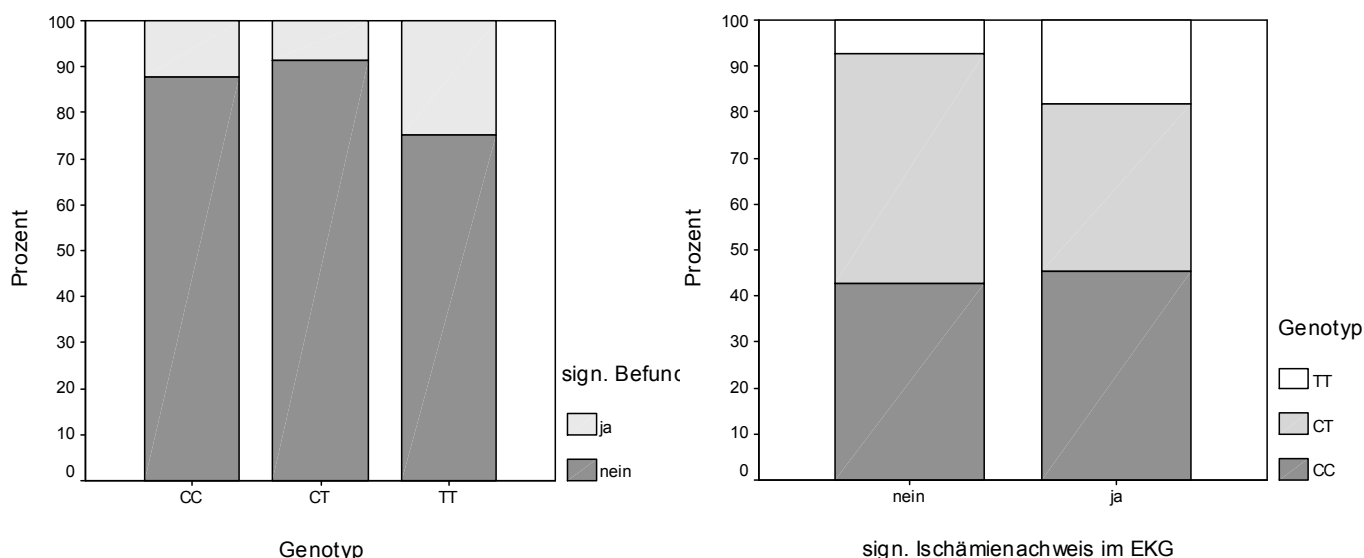


Abbildung 28: Verhältnis positiver zu negativen EKG-Befunden in den Genotypen bzw. relative Anteile der Genotypen in den Gruppen mit positivem/negativem Befund

Tabelle 25: Verteilung positiver und negativer EKG-Befunde auf die Genotypen

			Genotyp			Gesamt
			CC	CT	TT	
Ischämiehinweis im EKG	nein	N	36	42	6	84
		Genotyp %	87,8%	91,3%	75,0%	88,4%
	Ja	N	5	4	2	11
		Genotyp %	12,2%	8,7%	25,0%	11,6%

3.3.4.3 Ischämiehinweise insgesamt: Zusammenfassung von Fällen mit Angina pectoris, positivem EKG-Befund oder beidem

Wie eine Übersicht der betroffenen Patienten demonstriert (Tabelle 27), traten pectanginöse Beschwerden und positiver EKG-Befund bei vielen Patienten nicht gemeinsam auf.

Pectanginöse Symptomatik war ausschließlich bei Trägern des T-Allels zu finden, während der Ischämienachweis im EKG heterogen war. Wir unterschieden zwischen drei Ausprägungen der Ischämiezeichen, nämlich isolierter Angina pectoris, isolierten EKG-Veränderungen und der Kombination von AP und positivem EKG.

Ob zwischen den Genotypen bzw. den Allelen bestimmte Bevorzugungen für eine dieser Ausprägungen von Ischämiehinweisen bestanden, prüften wir mit Hilfe von Kreuztabellen, da die Ausprägungen nominales Skalenniveau haben. Es ergab sich mit dem chi-Quadrat-Test bei zweiseitiger Fragestellung keine Signifikanz für einen der Genotypen.

Im Vergleich CC gegen CT/TT war, wie bereits in Tabelle 26 ersichtlich, der CC-Genotyp bei isoliertem EKG-Befund überrepräsentiert und in den beiden anderen Ausprägungen unterrepräsentiert. Für den exakten Test nach Fisher ergab sich ein p-Wert von 0,085.

Tabelle 26: Häufigkeitstabelle von Ischämiezeichen der Genotyp-Gruppen

		Genotyp			Gesamt
		CC	CT	TT	
AP	keine	41	42	7	90
	nicht-limitierend	0	3	0	3
	belastungslimitierend	0	1	1	2
sign. EKG-Befund	nein	36	42	6	84
	ja	5	4	2	11
kumuliert: AP u./o. pos. EKG	nein	36	40	5	81
	ja	5	6	3	14

Tabelle 27: Ischämiezeichen als klinische Symptomatik oder EKG-Befund, Patientenübersicht

Patient Nr.	AP (0=keine; 1=nicht belastungslimitierend; 2=belastungslimitierend)	positiver EKG-Befund (0=nein, 1=ja)	C825T-Genotyp
1	0	1	TT
7	2	0	TT
8	1	1	TT
9	1	0	CT
32	0	1	CT
38	2	0	CT
43	0	1	CT
45	1	1	CT
51	1	1	CT
68	0	1	CC
84	0	1	CC
88	0	1	CC
93	0	1	CC
95	0	1	CC

3.3.4.4 Ausmaß der ST-Streckensenkungen

Das genaue Ausmaß der ST-Streckenveränderungen wird einerseits zur Bestimmung des Duke-Scores benötigt, andererseits können sich natürlich auch ischämietypische EKG-Befunde im jeweiligen Ausmaß der ST-Streckensenkung unterscheiden.

Die Mittelwerte aus den validierten Werten der Gerätemessung sind in den Tabellen 28 und 29 für die Gesamtstichprobe bzw. für die 11 Patienten mit positivem EKG-Befund zusammengestellt. Im Durchschnitt der Gesamtstichprobe bestanden nur sehr geringe ST-Streckensenkungen, nämlich kleiner 0,1mV, entsprechend der geringen Anzahl positiver EKG-Befunde. Weder in Belastungs- noch Erholungsphase unterschieden sich die Genotypen der Gesamtpopulation hinsichtlich des durchschnittlichen Ausmaßes der ST-Streckensenkung signifikant voneinander.

In der Untergruppe der Patienten mit positivem EKG-Befund gab es für Träger des T-Allels einen Trend zu signifikant geringeren ST-Streckensenkungen in der Erholungsphase ($p_{\text{EXAKT}}=0,0702$, $p_{\text{ASYMPT}}=0,0618$), der Messwert während der Belastung dagegen war nicht mit dem T-Allel assoziiert.

Das T-Allel war also in der kleinen Gruppe (n=11) der Patienten mit positivem EKG-Befund mit einem Trend zu geringeren ST-Streckennegativierungen in der Erholungsphase assoziiert.

Tabelle 28: Durchschnittliche Werte der ST-Streckensenkung, aufgeteilt nach Genotyp für die gesamte Stichprobe

(n=95)		ST-Senkung Belastung (Mittelwert)	ST-Senkung Erholung (Mittelwert)
Genotyp	CC	-0,07	-0,07
	CT	-0,06	-0,05
	TT	-0,04	-0,03
Gesamt		-0,06	-0,06

Tabelle 29: Durchschnittliche Werte der ST-Streckensenkung, aufgeteilt nach Genotyp für die Subgruppe der Patienten mit Ischämienachweis im EKG

(n=11)		ST-Senkung Belastung (Mittelwert)	ST-Senkung Erholung (Mittelwert)
Genotyp	CC	-0,19	-0,15
	CT	-0,16	-0,10
	TT	-0,18	-0,09
Gesamt		-0,18	-0,12

3.3.5 Assoziation mit dem Duke-Score

Der mittlere Duke-Score (vgl. Abschnitt 2.3.6), der die statistische 5-Jahres-Überlebensrate prognostiziert, betrug für den Genotyp CC 0,91, für CT und TT je 0,90 (Tabelle 30). Bei Darstellung der Lagemaße im Boxplot deutete sich ebenfalls kein Trend an (Abbildung 29), der Trendtest ergab keine Assoziation zwischen Duke-Score und Genotyp ($p=0,261$).

Tabelle 30: Werte des Duke-Scores in den Genotypen

		Genotyp			Gesamt
		CC	CT	TT	
Duke-Score (5-Jahres- Überlebensrate)	Mittelwert	0,91	0,90	0,90	0,91
	Standardabw.	0,03	0,03	0,05	0,03

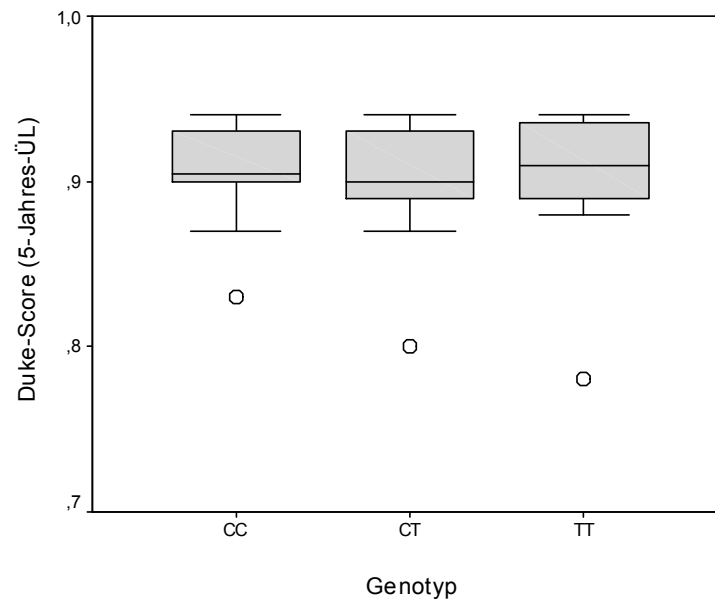


Abbildung 29: Lagemaße des Duke-Score im Boxplot, aufgeteilt nach Genotyp

3.4 Ergebnisse der Koronarangiographie in einer Subpopulation

Im Verlauf der weiteren Diagnostik wurde bei 59 Patienten unserer Stichprobe eine Koronarangiographie durchgeführt (Tabelle 31). Bei 72,9% der koronarangiographierten Patienten wurde eine stenosierende KHK nachgewiesen. Abbildungen 30 und 31 geben eine Übersicht der Befunde: Auffällig war, dass bei allen per Koronarangiographie untersuchten Patienten des Genotyps TT eine stenosierende KHK nachgewiesen wurde, ein Trend über die Genotypen zeichnete sich hier aber nicht ab.

Der Genotyp beeinflusste die Wahrscheinlichkeit einer Abklärung durch Koronarangiographie nicht, da keine Signifikanz zwischen Genotyp und Zugehörigkeit zur koronarangiographierten Gruppe nachweisbar war ($p=0,25$).

Weder das Vorhandensein einer stenosierenden KHK noch deren Schweregrad nach Anzahl der betroffenen Gefäße zeigten eine Assoziation zum Genotyp ($p=0,4235$ bzw. $p=0,1028$).

Tabelle 31: Ergebnisse der Koronarangiographie von 59 Patienten nach Genotyp

			Genotyp			Gesamt
			CC	CT	TT	
Koronar-angiographie ja/nein	nein	Anzahl	19	13	4	36
		Genotyp %	46,3%	28,3%	50,0%	37,9%
	ja	Anzahl	22	33	4	59
		Genotyp %	53,7%	71,7%	50,0%	62,1%
stenosierende KHK	Ausschluss	Anzahl	4	12	0	16
		Genotyp %	18,2%	36,4%	0%	27,1%
	Nachweis	Anzahl	18	21	4	43
		Genotyp %	81,8%	63,6%	100,0%	72,9%
Anzahl betroffener Gefäße	0		4	12	0	16
	1		4	5	2	11
	2		5	9	1	15
	3		9	7	1	17

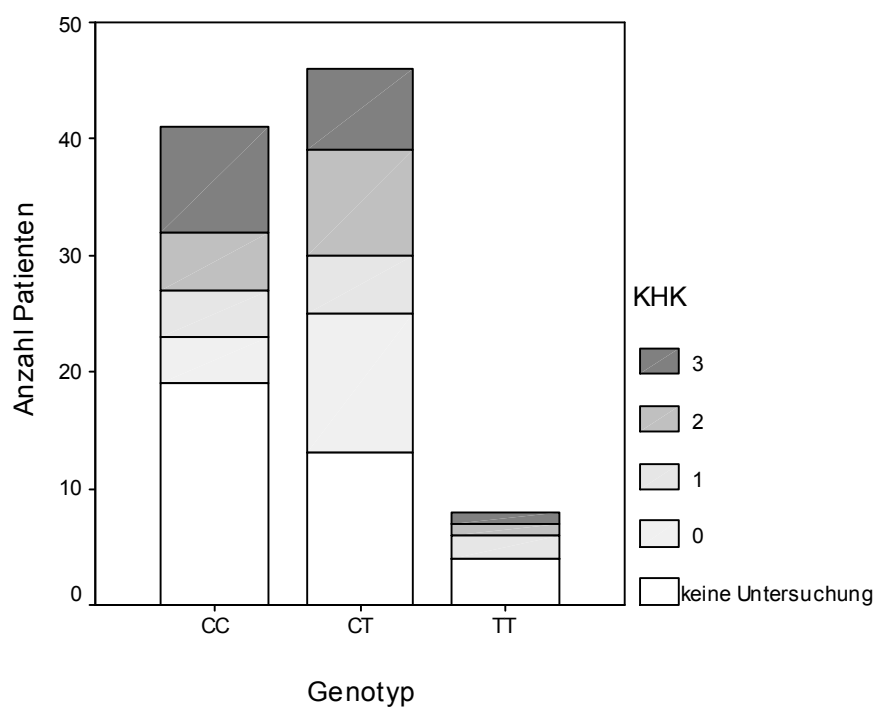


Abbildung 30: Verteilung der Abklärung durch Koronarangiographie (nicht durchgeführt vs. durchgeführt) sowie gegebenenfalls der Ergebnisse (Anzahl betroffener Gefäße) zwischen den Genotypen

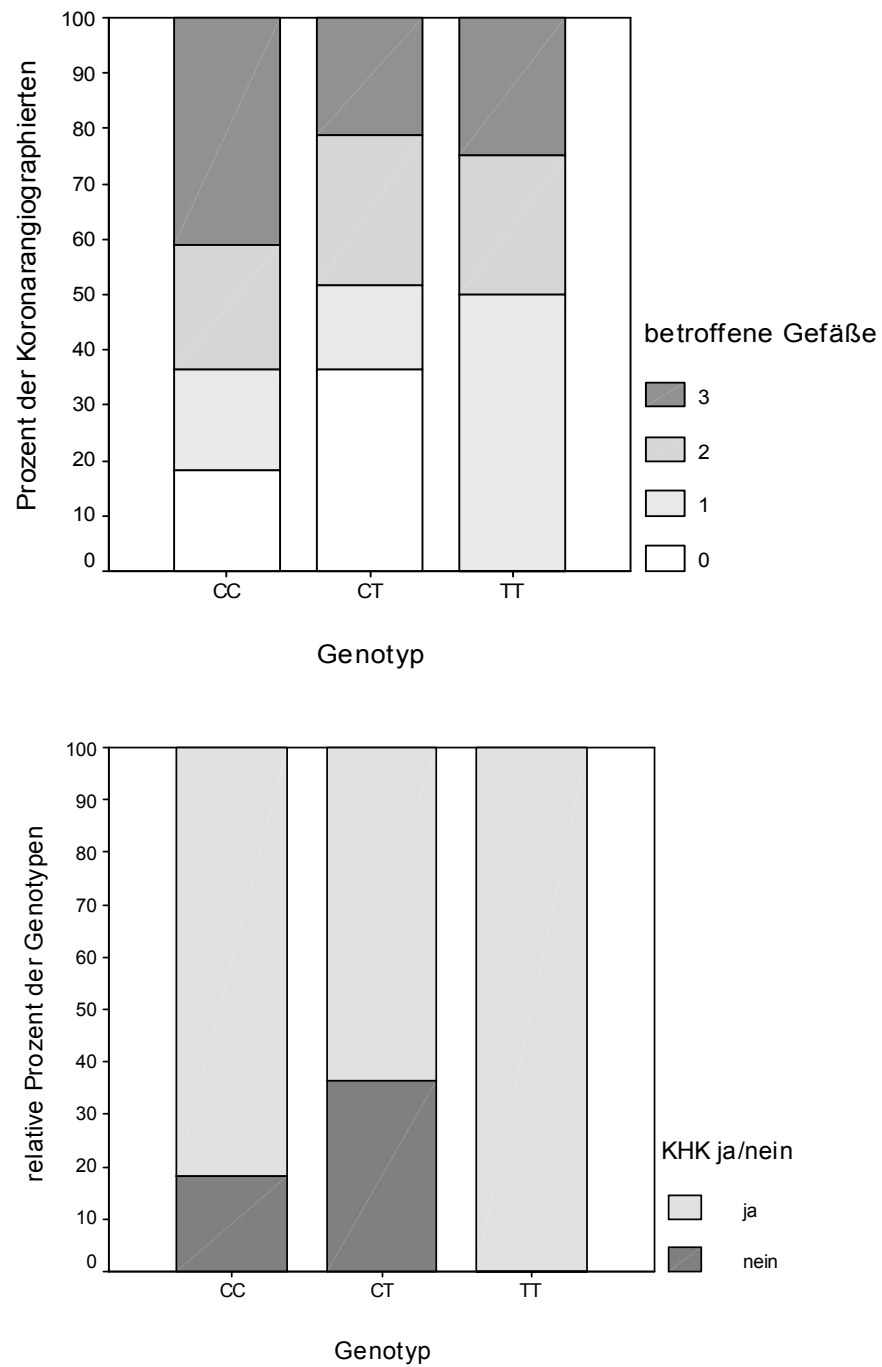


Abbildung 31: Anzahl betroffener Gefäße als Genotyp-bezogener Prozentsatz bzw. Abgrenzung von Nachweis und Ausschluss stenosierender KHK in den Genotypen

4 Diskussion

Der GNB3 C825T-Polymorphismus besitzt einen zellulären Phänotyp verstärkter intrazellulärer Signaltransduktion über Pertussis-Toxin-sensitive G-Proteine (85).

Eine deutliche Assoziation des 825T-Allels mit Risikofaktoren und manifesten kardiovaskulären Erkrankungen einerseits und gefäßregulierenden Mechanismen andererseits machen diesen GNB3-Polymorphismus zu einem aussichtsreichen Kandidaten als Risikofaktor der KHK.

In verschiedenen Studien war eine Korrelation mit Auftreten und Schwere der KHK koronarangiographisch nachgewiesen worden (96), verstärkte koronare Vasokonstriktion war in gesunden und atherosklerotisch veränderten Gefäßen nach medikamentöser Adrenozeptor-aktivierung gesehen worden (2). Bereits Baumgart et al. hatten eine Untersuchung unter physiologischer Adrenozeptorwirkung, z.B. bei körperlicher Anstrengung, angeregt (2), dies ist unseres Wissens nach mit dieser Arbeit zum ersten Mal erfolgt.

Ziel dieser Arbeit war es daher festzustellen, ob Träger des GNB3 C825T-Polymorphismus, die sich unter dem Verdacht einer KHK einem Fahrrad-Belastungs-EKG unterziehen, Unterschiede in Belastungsverlauf und -befund aufweisen. Insbesondere sollte untersucht werden, ob unter physiologischer Belastung vermehrt klinische Beschwerden oder Ischämiehinweise im EKG zu beobachten sind und ob dieser Genotyp hinsichtlich der hämodynamischen Anpassung an Belastung, wie z.B. der Blutdruckregulation, Besonderheiten zeigt.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass in unserer Stichprobe das GNB3 825T-Allel signifikant mit reduzierter Leistungsfähigkeit und vermehrter klinischer Symptomatik im Belastungs-EKG assoziiert ist.

4.1 Assoziation mit vermehrter klinischer Symptomatik

In der vorliegenden Untersuchung fanden wir unter körperlicher Belastung signifikant häufiger pectanginöse Beschwerden bei Trägern des T-Allels. Dies stimmt überein mit den Beobachtungen von Baumgart et al. (1, 2), die nach intrakoronarer Gabe eines α_2 -Agonisten eine verstärkte Reduktion des koronaren Blutflusses und vermehrte Ischämiezeichen in Form von pectanginöser Symptomatik oder ST-Streckensenkungen bei Trägern des 825T-Polymorphismus feststellten. Diese verstärkte Ischämiesymptomatik trat sowohl bei Individuen mit als auch ohne signifikante KHK auf.

In einer anderen Arbeit wurde eine vermehrte orthostatische Sympathikusaktivierung bei Trägern des T-Allels festgestellt (45).

Eine Vergleichbarkeit der Beteiligung von α_2 -Adrenozeptoren bei der koronaren Vasokonstriktion zwischen intrakoronarer Agonistengabe und Stimulation der Sympathikusnerven ist durch Experimente an Hunden belegt (10).

Daher erscheint die Assoziation des T-Allels mit pectanginösen Beschwerden unter Belastung erklärbar durch eine vermehrte koronare Vasokonstriktion, die möglicherweise sowohl aufgrund vermehrter Sympathikusaktivierung bei Belastungsanpassung als auch durch eine verstärkte α_2 -Adrenozeptorwirkung an der Gefäßmuskulatur selbst zustande kommt.

Trotz häufigerer thorakaler Beschwerden wiesen die Träger des T-Allels nicht signifikant häufiger ischämietypische EKG-Veränderungen auf. Als mögliche Erklärung hierfür wäre zu diskutieren, ob die Betroffenen, da ja Träger des T-Allels auch signifikant weniger Maximalbelastung erreichten (siehe Abschnitt 4.2), die Belastung früher abbrachen, so dass zwar klinische Beschwerden, aber noch kein aussagekräftiger EKG-Befund bestanden. Im Unterschied zur intrakoronaren Agonistengabe ist bei der Fahrradergometrie die „Agonistendosis“ als koronarer Reiz durch den Patienten beeinflussbar, indem dieser die Belastung beendet.

Unsere Ergebnisse sprechen für eine vermehrte pectanginöse Symptomatik bei Trägern des GNB3 825T-Allels nicht nur unter experimentellen Bedingungen (2), sondern auch bei physiologischer, submaximaler Belastung. Obwohl alle symptomatischen Patienten Träger des T-Allels waren, während der CC-Genotyp ausschließlich EKG-Veränderungen aufwies, und wir einen signifikanten Trend nach Art eines Gen-Dosis-Effekts nachweisen konnten, bleibt die Reproduzierbarkeit dieses Effekts in größeren Populationen abzuwarten.

Im Idealfall könnten sich daraus in Zukunft therapeutische Konsequenzen ergeben, indem zum Beispiel der vasomotorischen Dynamik koronarer Plaques bei diesem Genotyp schon in möglichst frühen Erkrankungsstadien Rechnung getragen wird.

Da der Polymorphismus zusätzlich pharmakogenetische Bedeutung hat und er zum Beispiel mit verstärkter Venodilatation auf Nitroglycerin einhergeht (48), könnten für Träger des T-Allels andere Therapieregime bei Angina pectoris erfolgreich sein als für CC, so dass eine am Genotyp orientierte Medikamentenentwicklung und -verordnung sinnvoll sein könnte.

4.2 Assoziation mit verminderter Leistungsfähigkeit

Des Weiteren konnten wir in unserer Untersuchung eine deutliche Abnahme der maximalen Belastung in Watt über die Genotypen hinweg zeigen. Der Genotyp CC erreichte im Mittel 18 Watt mehr als Endbelastung gegenüber TT, obwohl sich die Gruppen in anderen Parametern wie Alter, Geschlecht, maximaler Herzfrequenz oder Erreichen der Ausbelastungsgrenze nicht signifikant unterschieden.

Die bei einer Herzfrequenz von 130/Minute erbrachte Leistung in Watt, die wir zur Berechnung der PWC_{130} ermittelten, war noch deutlicher mit dem T-Allel assoziiert.

Auch die PWC_{130} selbst, die als Parameter der kardiopulmonalen Leistungsfähigkeit besonders des älteren Menschen gilt (80), war ebenfalls signifikant mit dem Genotyp assoziiert: Träger des T-Allels erreichten bei einer Herzfrequenz von 130/Minute weniger Watt pro Kilogramm Körpergewicht, obwohl sich die Gruppen hinsichtlich des Gewichts nicht signifikant unterschieden. Ein geringer Trend deutete an, dass die CT-/TT-Gruppen im Mittel etwas leichter waren, so dass eine rein rechnerisch erklärbare, nur scheinbare Leistungsreduktion durch Übergewicht zum Beispiel ausgeschlossen werden kann (zum BMI siehe Abschnitt 4.4).

Bei Umwandlung der maximalen Belastungsstufe in METs war in der Gesamtpopulation weiterhin ein fallender Trend über die Genotypen hinweg erkennbar, dieser erreichte aber keine Signifikanz mehr. Eine mögliche Erklärung für diesen Unterschied gegenüber den anderen ermittelten Leistungsparametern kann in der relativ unexakten Umrechnung zu METs liegen, da die in der gängigen Literatur verwendeten Tabellen Klassen von 10 kg (bei Männern) bzw. 5 kg (bei Frauen) bei der Einteilung des Körpergewichts vornehmen, wodurch zwangsläufig Information verloren geht. Die Umrechnung in METs war erforderlich, weil sie verschiedene Belastungsformen wie Fahrrad- und Laufbandergometrie miteinander vergleichbar macht und prognostische Beurteilungen wie der Duke-Score hierauf basieren. Darüber hinaus erschien die Umrechnung sinnvoll, weil auf diese Weise Gewichtungen der Leistung nach Geschlecht möglich waren, da METs im Gegensatz zu Watt geschlechtsspezifisch bestimmt werden. Der Verlust der Signifikanz infolge dieser Umrechnung ist aber nicht einfach durch eine „Richtigstellung“ von geschlechtsbedingten Leistungsunterschieden zu erklären, da sich die Genotypen hinsichtlich der Geschlechterverteilung nicht signifikant unterschieden.

Eine interessante Beobachtung ergab sich aus der separaten Auswertung chronotrop inkompetenter Patienten unserer Population. Chronotrope Inkompetenz wurde aufgrund der verwendeten Leistungsparameter auf zwei Arten definiert: Erstens als die mangelnde Fähigkeit, mindestens 85% der altersgemäß vorhergesagten maximalen Herzfrequenz zu erreichen. Aus der oben genannten Analyse der PWC₁₃₀ ergab sich zweitens aber auch eine Gruppe von Patienten, die die altersunabhängig geforderte Herzfrequenz von 130/min nicht erreichen konnten. Beide Untergruppen mit ungenügendem Herzfrequenzanstieg überschritten sich zwangsläufig teilweise. In beiden Untergruppen bestätigte sich nicht nur die mit dem T-Allel assoziierte verminderte maximale Leistung in Watt, sondern es ergab sich zusätzlich eine Assoziation des T-Allels mit erniedrigter Belastungsherzfrequenz. Da die maximal erreichte Herzfrequenz bei Belastungsuntersuchungen einen prognostischen Faktor darstellt (35), deutet das besonders schlechte Ergebnis von Trägern des T-Allels in einer Untergruppe chronotrop inkompetenter Patienten auf eine zusätzliche Gefährdung hin.

Weil über einen Zusammenhang zwischen dem GNB3-Polymorphismus und kardiopulmonaler Leistungsfähigkeit noch fast keine Erkenntnisse vorliegen, ist eine Einordnung unserer Ergebnisse in diesem Punkt schwierig.

Allerdings haben Lee et al. eine Assoziation des TT-Genotyps mit reduzierter maximaler Sauerstoffaufnahmekapazität bei adipösen Probanden festgestellt (36). Sie konnten bei jungen Koreanern eine Assoziation des T-Allels mit Adipositas und innerhalb der adipösen Gruppe eine deutlich reduzierte Fitness des TT-Genotyps nachweisen.

Familienuntersuchungen zur Erforschung der Hypertonie haben außerdem erbracht, dass nicht nur in der Elterngeneration eine Assoziation des GNB3-TT mit echokardiographisch nachweisbarer diastolischer Dysfunktion zu finden ist, sondern dass auch die TT-positiven Nachkommen, in dieser Studie im Durchschnitt 25 Jahre alt, Merkmale der diastolischen Dysfunktion tragen (61). Eine Assoziation zwischen GNB und diastolischer Dysfunktion ist auch bei mäßigem Hypertonus gesehen worden (32).

Diastolische Funktionsstörungen, insbesondere erhöhte linksventrikuläre Füllungsdrücke, sind unabhängig von der systolischen linksventrikulären Funktion in allen Altersgruppen ein starker Prädiktor für reduzierte Belastungskapazität (89), was zu unseren Ergebnissen passen würde.

Arterielle Hypertonie und Adipositas begünstigen die Ausbildung diastolischer Funktionsstörungen (50) und gehen mit reduzierter Leistungskapazität einher (40). GNB3-s ist bei jüngeren Menschen

mit Adipositas und Hypertonie assoziiert (86) und begünstigt ein früheres Fortschreiten der Hypertonie (75). Eine verstärkte pathophysiologische Anpassung ist bereits bei jungen Patienten bei Hypertonie beobachtet worden (99).

Zusätzlich scheint eine in rezessiver Weise vererbte Disposition zu linksventrikulärer diastolischer Dysfunktion zu bestehen (61).

Demnach sind Träger des T-Allels, insbesondere der TT-Genotyp, in jüngerem Alter und schwerer als die Durchschnittsbevölkerung von leistungsmindernden Risikofaktoren betroffen, deren gemeinsame Endstrecke die diastolische Dysfunktion darstellt. Es ist daher zu erwarten, dass in höherem Alter, nach vergleichsweise längerer Exposition, Leistungseinbußen bei diesem Genotyp häufiger auftreten, was wir in unserer Untersuchung auch nachweisen konnten.

Zudem scheint beim TT-Genotyp bereits in jungen Jahren eine verminderte Kompensationsfähigkeit gegenüber leistungsmindernden Begleitumständen wie Adipositas zu bestehen, d.h. bei gleicher Ausprägung der Begleiterkrankung kann eine geringere Fitness erbracht werden (36).

Insgesamt scheint somit aus der aktuellen Studienlage die Schlussfolgerung möglich, dass das T-Allel über eine diastolische Funktionsstörung mit verminderter kardiopulmonaler Leistungsfähigkeit assoziiert sein könnte. Dies hätte große klinische Bedeutung, da Einschränkungen der Leistungskapazität wiederum ein starker unabhängiger Risikofaktor für Gesamtmortalität und kardiale Ereignisse sind (13, 44, 90).

Die Aussagekraft unserer Untersuchung ist angesichts einer derart komplexen Hypothese limitiert, vor allem da zu viele Einflussgrößen der Leistungsfähigkeit in unserem Patientenkollektiv zusammentreffen. Zu nennen sind z.B. die hohe Prävalenz von Hypertonie und multipler medikamentöser Therapie, das fortgeschrittene Alter, und die hohe Prävalenz (72,8%) stenosierender KHK im koronarangiographierten Teil der Population.

Außerdem erfasste unsere Untersuchung keine echokardiographischen Daten der Patienten, weshalb die tatsächliche Prävalenz diastolischer Funktionsstörungen in unserer Stichprobe nicht überprüfbar ist.

Größere Studien mit Leistungsdiagnostik an asymptomatischen, jungen Probanden, Adipösen sowie jungen Patienten mit beginnender Hypertonie, die möglichst auch die Echokardiographie einschließen sollten, könnten diese Hypothese besser überprüfen.

4.3 Assoziation mit KHK

4.3.1 Befunde der Koronarangiographie

Im Gegensatz zu einer anderen Untersuchung (96) konnten wir in der Subpopulation der Patienten, die im weiteren Verlauf koronarangiographisch untersucht wurden, nur einen geringen Trend zu schwererer KHK bei Vorhandensein des T-Allels nachweisen. Es muss jedoch hierbei betont werden, dass die Koronarangiographie nur eine Nebenbeobachtung unserer Untersuchung darstellte. Da nicht alle Patienten, sondern nur etwa zwei Drittel (62,1%) koronarangiographiert wurden, ist, auch wenn sich die Genotypen hinsichtlich der Weiterleitung zur Koronarangiographie nicht signifikant unterschieden, eine Verzerrung durch geringe Selektion nicht auszuschließen.

4.3.2 Duke-Score

Der mit Hilfe eines Nomogramms aus Maximalbelastung, ST-Streckensenkung und belastungsinduzierter Angina-Pectoris-Symptomatik bestimmbare Duke-Score stellt ein anerkanntes diagnostisches und prognostisches Mittel zur Einschätzung der Mortalität an KHK dar (43, 83). Seine Anwendung wird in internationalen Leitlinien empfohlen (18, 21).

In der vorliegenden Untersuchung ergaben sich zwischen den Genotypen trotz signifikanter Unterschiede in Häufigkeit und Stärke der belastungsinduzierten pectanginösen Symptomatik nur geringe Unterschiede in der 5-Jahres-Prognose, entsprechend im Mittel 1% erhöhter kardiovaskulärer Sterblichkeit für sowohl den heterozygot als auch den homozygot veränderten Genotyp. Dieser Unterschied erreichte aber keine statistische Signifikanz.

Die Ermittlung des Duke-Scores setzt die Umrechnung der Leistungsfähigkeit in Metabolische Äquivalente voraus, diese hatten jedoch von allen Leistungsparametern in unserer Untersuchung die schwächste Assoziation mit dem Genotyp. Mögliche Ursachen hierfür wurden in Abschnitt 4.2 erörtert. Eine mögliche Unterbewertung der Leistungsunterschiede nach Umrechnung würde auch zu einer Angleichung der Scores der Genotypen führen. Das ausschließliche und teilweise belastungslimitierende Auftreten von Angina pectoris bei Trägern des T-Allels hat, eventuell aufgrund der geringen absoluten Zahl von Patienten, anscheinend nicht ausgereicht, den Score signifikant zu verändern.

Andererseits lassen die ähnlichen Befunde der Genotypen hinsichtlich ST-Streckensenkungen und Koronarangiographie eine ausgeprägte Veränderung eines prognostischen Scores nicht wahrscheinlich erscheinen.

Da sich das Patientenkollektiv in guter Übereinstimmung mit dem Hardy-Weinberg-Gesetz befindet, ist eine Selektion der Patienten durch früher eingetretene Todesfälle bei Trägern des T-Allels ebenfalls nicht anzunehmen.

4.4 Assoziation mit Risikofaktoren der KHK

In der von uns untersuchten Stichprobe wies ein auffallend hoher Prozentsatz (77,9%) der Patienten hypertensive Blutdruckwerte oder eine entsprechende Medikation auf. Es ließ sich keine Assoziation des GNB3-Genotyps mit der Höhe des systolischen Blutdruckwertes oder dem Vorhandensein arterieller Hypertonie zeigen, auch in der Einnahme von Antihypertensiva unterschieden sich die Genotypen nicht. Ein signifikanter Trend für den diastolischen Blutdruckwert zeigte unerwarteterweise, dass mit dem T-Allel erniedrigte diastolische Werte verbunden waren. Dies widerspricht einer Studie, in der der Polymorphismus mit erniedrigten Renin-Serumwerten und erhöhtem diastolischem Blutdruck assoziiert war (79). Im Gegensatz zu unserer Untersuchung waren dort nur Patienten ohne antihypertensive Medikation eingeschlossen worden, während in unserer Stichprobe 57,9% der Patienten unter Therapie mit Antihypertensiva waren. Die eingesetzten Antihypertensiva wurden von uns nach Mono- und Kombinationstherapie unterschieden und Betarezeptorenblocker wegen ihrer besonderen Bedeutung für die Ergometrie getrennt erfasst, die Genotypen unterschieden sich in der Medikation nicht signifikant. Die eingenommene Dosis konnte aber wegen der Vielzahl der möglichen Medikamente und damit einhergehender fehlender Vergleichbarkeit nicht in die Auswertung einfließen. Daher ist es durchaus möglich, dass Art und Dosierung der antihypertensiven Therapie einerseits mögliche Blutdruckunterschiede zwischen den Genotypen verschleiern oder andererseits erniedrigte diastolische Werte bei Trägern des Polymorphismus vortäuschen könnten.

Eine Untersuchung unter Medikation erschwert die Interpretation der Ergebnisse, war aber in unserer Population erforderlich, um das erneute Auftreten akuter Beschwerden zu vermeiden und die Patienten keinem erhöhten Risiko auszusetzen.

Unsere Population rekrutierte sich aus Patienten, die wegen pectanginöser Beschwerden vorstellig wurden. Dadurch waren die Untersuchten im Mittel älter als Studienpopulationen, die eine Assoziation des T-Allels mit Risikofaktoren wie Hypertonie oder Adipositas bestätigen konnten (3, 5, 28, 85). So lag z.B. in der größten multiethnischen Studie, die die Assoziationen zu beiden Risikofaktoren untersuchte, das Alter der Probanden zwischen 18 und 30 Jahren (86).

Im Gegensatz zu mehreren Studien (86, 87) konnten wir ebenfalls keine Assoziation des GNB3 T-Allels mit Übergewicht und Adipositas zeigen.

Wir fanden in unserem Patientengut einen bei allen Genotypen annähernd identischen mittleren BMI im leicht übergewichtigen Bereich ($\text{BMI}=26,48 \pm 3,37 \text{ kg/m}^2$) und damit keinerlei Trend in Zusammenhang mit dem T-Allel. Auch nach Klassierung des BMI in „normgewichtig“, „übergewichtig“ und „adipös“ entsprechend der in der größten weltweiten Studie (86) vorgenommenen Einteilung (<25 , 25 bis 27 , $>27 \text{ kg/m}^2$) ergab sich keine signifikante Bedeutung des Genotyps für die Zugehörigkeit zu einer der BMI-Klassen.

Zunächst erscheint unerwartet, dass keine der in großen Populationen beobachteten Assoziationen des GNB3 mit arterieller Hypertonie und/oder erhöhtem BMI in unserer Stichprobe reproduziert werden konnte.

Die Studienlage stellt sich hier jedoch insgesamt heterogen dar, da verschiedene Untersuchungen diese Assoziationen ebenfalls nur teilweise oder nicht bestätigen konnten (3, 5, 28). Eine Assoziationsstudie über die T-Allel-abhängige Gewichtszunahme in der Schwangerschaft konnte eindrucksvoll die Bedeutung körperlicher Aktivität als Kompensationsmöglichkeit zeigen (25). Es scheint daher möglich, dass zusätzliche, in unserer Untersuchung nicht erfasste Faktoren eine kompensierende Auswirkung auf diese komplexen Phänotypen hatten.

Mehrere Studien fanden außerdem eine leichte Risikoerhöhung für Insulinresistenz und Diabetes mellitus Typ 2 in Assoziation mit dem T-Allel (34, 72, 97). Auch hier ist die Studienlage nicht ganz einheitlich (46). Wir sahen in unserem Patientengut eine vermehrte Häufigkeit von Diabetes mellitus Typ 2 bei Heterozygotie, 15,5% für CT gegenüber 4,9% für CC, der Trend war aber nicht signifikant.

Ausgehend von einer in Assoziation mit dem T-Allel beschriebenen vermehrten orthostatischen Sympathikusaktivierung (45) untersuchten wir außerdem Herzfrequenz- und Blutdruckparameter unter physiologischer Belastung. Neben dem bereits oben diskutierten signifikant niedrigeren

diastolischen Ruhewert zeigte sich auch in der dritten Erholungsminute wieder ein Trend zur Signifikanz für den diastolischen Blutdruck. Die schon genannten Argumente bezüglich des möglichen Einflusses der Antihypertensiva sind auch hier zu erwägen, insgesamt erscheint eine raschere diastolische Blutdruckerholung bei diesem Genotyp möglich.

Alle sonstigen Variablen des Belastungsverlaufs wie maximale Blutdruckwerte oder maximal erreichte Belastungsherzfrequenz zeigten in der Gesamtpopulation keine signifikante Assoziation mit dem Polymorphismus. Nur in der bereits angesprochenen Untergruppe chronotrop inkompetenter Patienten war die maximale Herzfrequenz für das T-Allel signifikant erniedrigt. Insgesamt schien der Polymorphismus in unserer Population keinen bedeutenden Einfluss auf hämodynamische Standardparameter des Belastungs-EKGs zu haben. Da die vermehrte Sympathikus- und verminderte Parasympathikusaktivität bei Wechsel der Körperposition durch Spektralanalyse der Herzfrequenzvariabilität gezeigt wurde (45), sind eventuell speziellere Untersuchungsverfahren zum Nachweis sehr kleiner Effekte besser geeignet.

4.5 Diskussion der Methodik

4.5.1 Diskussion der untersuchungsbezogenen Risiken für die Patienten

Das Belastungs-EKG gilt allgemein als risikoarme Untersuchung, schwere Komplikationen in Form von Myokardinfarkten oder lebensbedrohlichen Herzrhythmusstörungen werden in der Literatur mit Werten bis zu 1‰ angegeben (vgl. Abschnitt 1.1.4). In unserer Untersuchung traten erfreulicherweise keine schweren Untersuchungskomplikationen auf, bei zwei Patienten musste die Untersuchung jedoch wegen starker pectanginöser Beschwerden abgebrochen werden. Einer der betroffenen Patienten bot auch einen ischämietypischen EKG-Befund, der sich in der Erholungsphase komplett zurückbildete, der Patient war danach beschwerdefrei. Eine weitere Belastung wurde abgebrochen wegen ischämietypischer EKG-Veränderungen ohne klinische Symptomatik, auch dieser Patient zeigte eine spontane Normalisierung des EKG nach Erholung. Da es sich beim Belastungs-EKG um eine gezielt Ischämiezeichen provozierende Untersuchung handelt, sind die oben beschriebenen Beschwerden und Befunde im Rahmen des Methodenüblichen.

4.5.2 Diskussion der statistischen Auswertung

Da die Koronare Herzkrankheit ein multifaktorielles Krankheitsbild darstellt, wäre es von besonderem Interesse, die unterschiedlichen Anteile und Wechselwirkungen verschiedener Risikofaktoren zu identifizieren und die Beobachtungen unserer Untersuchung für Nebenfaktoren, wie z.B. Medikamenteneinnahme, Alter usw. zu kontrollieren. Insbesondere die Leistungskapazität ist vom Alter stark beeinflusst, wir fanden hier wie zu erwarten eine deutliche Assoziation. Zum Einbeziehen mehrerer Einflussfaktoren wären Verfahren wie die Varianzanalyse oder schrittweise logistische Regression sehr nützlich gewesen. Die meisten von uns erfassten Werte zeigten aber in der Exploration weder Normalverteilung noch Varianzhomogenität. Besonders wichtige Werte, wie z.B. die maximale Belastung in Watt, waren rechtsschief verteilt und konnten auch durch gängige Transformationen nicht normalisiert werden. Wir mussten daher auf nichtparametrische Testverfahren ausweichen, die in den in der gängigen Software implementierten Standardverfahren keine derartige Kontrolle für andere Einflussgrößen erlauben. Dadurch blieben einige interessante Fragen offen, so konnten wir zum Beispiel bei den Leistungsunterschieden der Genotypen nicht für das Alter kontrollieren. Wir konnten auf diesen Punkt daher nur durch indirekte Aussagen eingehen, wie die, dass sich die Genotypen im Alter nicht signifikant unterschieden, und dass die Regressionsgeraden der Genotypen (bei Annahme eines linearen Zusammenhangs) etwa parallel verliefen. Zukünftige Untersuchungen könnten insbesondere darauf ausgerichtet sein, die exakte Stärke des Einflusses des GNB3-Allels auf die Leistung zu bestimmen und es in Relation zu anderen Faktoren wie Alter und Geschlecht zu setzen.

Die von uns verwendeten nicht-parametrischen Tests, Cochran-Armitage für ordinalskalierte Variablen und Jonckheere-Terpstra bei Intervallskalierung, wurden bereits in Abschnitt 2.4.2 erläutert. Bei beiden Verfahren handelt es sich um Trendtests.

Die Verwendung von Trendtests ergab sich aus der Überlegung, dass, wenn bei Trägern des C825T-Polymorphismus ein bestimmter Effekt zu verzeichnen ist, dieser über die Genotypen hinweg eine eindeutige (steigende oder fallende) Tendenz haben wird. In verschiedenen Studien wurde für den G β_3 -C825T-Polymorphismus teils ein Gen-Dosis-Effekt, teils ein für das T-Allel rezessiver (61) oder dominanter (16) Effekt angenommen. Letzteres beruhte darauf, dass Siffert et al. zunächst (85) zeigen konnten, dass bereits das Vorhandensein des heterozygoten Genotyps für die Ausprägung des ursprünglich beschriebenen zellulären Phänotyps mit verstärkter Signaltransduktion ausreichend war. Nach dieser Annahme wäre also zwischen dem heterozygoten und dem für das T-Allel homozygoten Phänotyp keine weitere Zunahme des Gen-Effekts zu beobachten. Bei rezessivem

Verhalten, das in nur einer Studie (61) nahe gelegt wurde, wäre ein Effekt nur beim homozygoten T-Allelträger zu beobachten. Im Fall eines Gen-Dosis-Effekts, wie in anderen Studien (3, 79) und schließlich auch in einer weiteren Arbeit von Siffert et al. beschrieben (87), wäre der zu beobachtende Effekt für den homozygoten T-Allelträger am ausgeprägtesten, der Heterozygote befände sich auf einem Niveau zwischen CC- und TT-Homozygoten. Da bei keinem dieser Modelle aber ein plötzlicher Richtungswechsel des Effekts zu erwarten ist (dass also der TT-Phänotyp eine Ausprägung hätte, die zwischen der des CC- und CT-Phänotyps läge), erscheint die Anwendung von Trendtests für beide Vorstellungen angebracht.

4.5.3.1 Problem des multiplen Testens

Bei 115 erfassten Variablen und einer komplexen Fragestellung mit mehreren Unterpunkten ergab sich notwendigerweise eine Vielzahl an Einzeltests. Insgesamt wurden 52 Testoperationen durchgeführt, dies erhöht allein durch die Anzahl der Berechnungen aufgrund der durch das Signifikanzniveau gegebenen Irrtumswahrscheinlichkeit die Möglichkeit falsch-positiver Signifikanzen. Bei multiplem Testen wird daher empfohlen, das Signifikanzniveau zu senken. Durch die insgesamt relativ kleine Stichprobe und die entsprechend der Allelfrequenz kleine Gruppe homozygoter T-Allelträger konnten wir dieser Empfehlung nicht folgen, $p < 0,05$ wurde weiterhin als signifikant erachtet. Diese Problematik muss daher jedoch bei der Interpretation der Ergebnisse, die daher eher als explorativ zu betrachten sind, berücksichtigt werden.

5 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es festzustellen, ob Träger des C825T-Polymorphismus der G-Protein β_3 -Untereinheit, die sich unter dem Verdacht einer Koronaren Herzkrankheit einem Fahrrad-Belastungs-EKG unterzogen hatten, signifikante Abweichungen in Belastungsverlauf und -befund zeigen. Insbesondere sollte untersucht werden, ob unter physiologischer Belastung vermehrt klinische Beschwerden oder Ischämiehinweise im EKG zu beobachten sind, da bisherige Studien eine deutliche Assoziation des 825T-Allels mit kardiovaskulären Risikofaktoren und manifesten Erkrankungen einerseits und gefäßregulierenden Mechanismen andererseits gezeigt hatten.

Wir untersuchten eine Stichprobe von 95 Patienten, von denen 41 für das 825C-Allel homozygot waren (CC), 46 heterozygot (CT), und 8 Patienten homozygot für das 825T-Allel (TT).

Nach Auswertung der Untersuchungen und Aufbereitung der Daten ergab die Auswertung mit exakten Trendtests (Jonckheere-Terpstra bzw. Cochran-Armitage je nach Skalenniveau) eine um im Mittel 10,3% bzw. 11,5% geringere maximale Belastbarkeit für Träger des T-Allels (Genotyp CT bzw. TT), $p=0,0139$. Auch bestand eine signifikante Zunahme der Häufigkeit und Schwere belastungsinduzierter Angina pectoris mit Vorhandensein des T-Allels ($p=0,0201$).

Für multiple kardiovaskuläre Risikofaktoren wurde kein signifikanter Trend für die Genotypen beobachtet.

Es konnte somit für diese Stichprobe gezeigt werden, dass das G-Protein β_3 825T-Allel signifikant mit reduzierter Leistungsfähigkeit und vermehrter klinischer Symptomatik im Belastungs-EKG assoziiert ist. Diese Ergebnisse unterstützen einerseits die tatsächliche klinische Relevanz dieses Polymorphismus, andererseits erfordern sie weitere prospektive Beobachtungen, ob sich in Kenntnis des Genotyps diagnostische oder therapeutische Empfehlungen ableiten lassen.

6 Literaturverzeichnis

1. Baumgart D, Haude M, Gorge G, Liu F, Ge J, Grosse-Eggebrecht C, Erbel R, Heusch G. (1999): Augmented alpha-adrenergic constriction of atherosclerotic human coronary arteries. *Circulation*. 99: 2090-2097.
2. Baumgart D, Naber C, Haude M, Oldenburg O, Erbel R, Heusch G, Siffert W. (1999): G protein beta3 subunit 825T allele and enhanced coronary vasoconstriction on alpha(2)-adrenoceptor activation. *Circ Res*. 85: 965-969.
3. Benjafield AV, Jeyasingam CL, Nyholt DR, Griffiths LR, Morris BJ. (1998): G-protein beta3 subunit gene (GNB3) variant in causation of essential hypertension. *Hypertension*. 32: 1094-1097.
4. Birnbaumer L, Abramowitz J, Brown AM. (1990): Receptor-effector coupling by G proteins. *Biochim Biophys Acta*. 1031: 163-224.
5. Brand E, Herrmann SM, Nicaud V, Ruidavets JB, Evans A, Arveiler D, Luc G, Plouin PF, Tiret L, Cambien F. (1999): The 825C/T polymorphism of the G-protein subunit beta3 is not related to hypertension. *Hypertension*. 33: 1175-1178.
6. Brunner EM, Menzel U. (2002): *Nicht-parametrische Datenanalyse*. Kap. 2: Unverbundene Stichproben. S.119ff. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag.
7. Bunker SJ, Colquhoun DM, Esler MD, Hickie IB, Hunt D, Jelinek VM, Oldenburg BF, Peach HG, Ruth D, Tennant CC, Tonkin AM. (2003): "Stress" and coronary heart disease: psychosocial risk factors. *Med J Aust*. 178: 272-276.
8. Cabrera-Vera TM, Vanhauwe J, Thomas TO, Medkova M, Preininger A, Mazzoni MR, Hamm HE. (2003): Insights into G protein structure, function, and regulation. *Endocr Rev*. 24: 765-781.
9. Campeau L. (1976): Letter: Grading of angina pectoris. *Circulation*. 54: 522-523.
10. Chen DG, Dai XZ, Bache RJ. (1988): Postsynaptic adrenoceptor-mediated vasoconstriction in coronary and femoral vascular beds. *Am J Physiol*. 254: H984-992.
11. Davies MJ. (2000): The pathophysiology of acute coronary syndromes. *Heart*. 83: 361-366.
12. DESTATIS. Sterbefälle nach den 10 häufigsten Todesursachen insgesamt und nach Geschlecht 2004: Statistisches Bundesamt Deutschland; 2005. www.destatis.de/basis/d/gesu/gesutab20.php
13. Diaz LA, Brunken RC, Blackstone EH, Snader CE, Lauer MS. (2001): Independent contribution of myocardial perfusion defects to exercise capacity and heart rate recovery for prediction of all-cause mortality in patients with known or suspected coronary heart disease. *J Am Coll Cardiol*. 37: 1558-1564.

14. Dietz RR, B. (2003): Leitlinie zur Diagnose und Behandlung der chronischen koronaren Herzerkrankung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie - Herz- und Kreislaufforschung (DGK). *Z Kardiol.* 92: 501-521.
15. Dobrev D, Wettwer E, Himmel HM, Kortner A, Kuhlisch E, Schuler S, Siffert W, Ravens U. (2000): G-Protein beta(3)-subunit 825T allele is associated with enhanced human atrial inward rectifier potassium currents. *Circulation.* 102: 692-697.
16. Dong Y, Zhu H, Sagnella GA, Carter ND, Cook DG, Cappuccio FP. (1999): Association between the C825T polymorphism of the G protein beta3-subunit gene and hypertension in blacks. *Hypertension.* 34: 1193-1196.
17. Eisenhardt A, Siffert W, Roszkopf D, Musch M, Mosters M, Roggenbuck U, Jockel KH, Rubben H, Lummen G. (2005): Association study of the G-protein beta3 subunit C825T polymorphism with disease progression in patients with bladder cancer. *World J Urol.* 1-8.
18. Fletcher GF, Balady GJ, Amsterdam EA, Chaitman B, Eckel R, Fleg J, Froelicher VF, Leon AS, Pina IL, Rodney R, Simons-Morton DA, Williams MA, Bazzarre T. (2001): Exercise standards for testing and training: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation.* 104: 1694-1740.
19. Garcia-Higuera I, Gaitatzes C, Smith TF, Neer EJ. (1998): Folding a WD repeat propeller. Role of highly conserved aspartic acid residues in the G protein beta subunit and Sec13. *J Biol Chem.* 273: 9041-9049.
20. Gautam N, Downes GB, Yan K, Kisselev O. (1998): The G-protein betagamma complex. *Cell Signal.* 10: 447-455.
21. Gibbons RJ, Balady GJ, Beasley JW, Bricker JT, Duvernoy WF, Froelicher VF, Mark DB, Marwick TH, McCallister BD, Thompson PD, Winters WL, Jr., Yanowitz FG, Ritchie JL, Cheitlin MD, Eagle KA, Gardner TJ, Garson A, Jr., Lewis RP, O'Rourke RA, Ryan TJ. (1997): ACC/AHA guidelines for exercise testing: executive summary. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Exercise Testing). *Circulation.* 96: 345-354.
22. Gibbons RJ, Chatterjee K, Daley J, Douglas JS, Fihn SD, Gardin JM, Grunwald MA, Levy D, Lytle BW, O'Rourke RA, Schafer WP, Williams SV. (1999): ACC/AHA/ACP-ASIM guidelines for the management of patients with chronic stable angina: executive summary and recommendations. A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Management of Patients with Chronic Stable Angina). *Circulation.* 99: 2829-2848.

23. Gohlke H. (2003): Positionspapier zur Primärprävention kardiovaskulärer Erkrankungen. Aktuelle Fassung vom 25.3.2003. Herausgegeben vom Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie - Herz- und Kreislaufforschung. Bearbeitet im Auftrag des Vorstandes durch die Projektgruppe Prävention. *Z Kardiol.* 92: 522-524.
24. Gordon DJ, Ekelund LG, Karon JM, Probstfield JL, Rubenstein C, Sheffield LT, Weissfeld L. (1986): Predictive value of the exercise tolerance test for mortality in North American men: the Lipid Research Clinics Mortality Follow-up Study. *Circulation.* 74: 252-261.
25. Gutersohn A, Naber C, Muller N, Erbel R, Siffert W. (2000): G protein beta3 subunit 825 TT genotype and post-pregnancy weight retention. *Lancet.* 355: 1240-1241.
26. Hall RA, Premont RT, Lefkowitz RJ. (1999): Heptahelical receptor signaling: beyond the G protein paradigm. *J Cell Biol.* 145: 927-932.
27. Hamm CW, Braunwald E. (2000): A classification of unstable angina revisited. *Circulation.* 102: 118-122.
28. Hegele RA, Harris SB, Hanley AJ, Cao H, Zinman B. (1998): G protein beta3 subunit gene variant and blood pressure variation in Canadian Oji-Cree. *Hypertension.* 32: 688-692.
29. Hengstenberg C, Schunkert H, Mayer B, Döring A, Lowel H, Hense HW, Fischer M, Riegger GA, Holmer SR. (2001): Association between a polymorphism in the G protein beta3 subunit gene (GNB3) with arterial hypertension but not with myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 49: 820-827.
30. Hubert HB, Feinleib M, McNamara PM, Castelli WP. (1983): Obesity as an independent risk factor for cardiovascular disease: a 26-year follow-up of participants in the Framingham Heart Study. *Circulation.* 67: 968-977.
31. Iiri T, Farfel Z, Bourne HR. (1998): G-protein diseases furnish a model for the turn-on switch. *Nature.* 394: 35-38.
32. Jacobi J, Hilgers KF, Schlaich MP, Siffert W, Schmieder RE. (1999): 825T allele of the G-protein beta3 subunit gene (GNB3) is associated with impaired left ventricular diastolic filling in essential hypertension. *J Hypertens.* 17: 1457-1462.
33. Kato N, Sugiyama T, Morita H, Kurihara H, Yamori Y, Yazaki Y. (1998): G protein beta3 subunit variant and essential hypertension in Japanese. *Hypertension.* 32: 935-938.
34. Kiani JG, Saeed M, Parvez SH, Frossard PM. (2005): Association of G-protein beta-3 subunit gene (GNB3) T825 allele with Type II diabetes. *Neuro Endocrinol Lett.* 26: 87-88.
35. Lauer MS, Okin PM, Larson MG, Evans JC, Levy D. (1996): Impaired heart rate response to graded exercise. Prognostic implications of chronotropic incompetence in the Framingham Heart Study. *Circulation.* 93: 1520-1526.

36. Lee J, Lee S, Shin S, Kang HS. (2005): Association between the GNB3 polymorphism and blood pressure in young Korean men. *Med Sci Sports Exerc.* 37: 1138-1143.
37. Lekakis JP, Papamichael CM, Cimponeriu AT, Stamatelopoulos KS, Papaioannou TG, Kanakakis J, Alevizaki MK, Papapanagiotou A, Kalofoutis AT, Stamatelopoulos SF. (2000): Atherosclerotic changes of extracoronary arteries are associated with the extent of coronary atherosclerosis. *Am J Cardiol.* 85: 949-952.
38. Levine MA, Smallwood PM, Moen PT, Jr., Helman LJ, Ahn TG. (1990): Molecular cloning of beta 3 subunit, a third form of the G protein beta-subunit polypeptide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 87: 2329-2333.
39. Lifton RP, Hunt SC, Williams RR, Pouyssegur J, Lalouel JM. (1991): Exclusion of the Na(+)-H⁺ antiporter as a candidate gene in human essential hypertension. *Hypertension.* 17: 8-14.
40. Lim PO, MacFadyen RJ, Clarkson PB, MacDonald TM. (1996): Impaired exercise tolerance in hypertensive patients. *Ann Intern Med.* 124: 41-55.
41. Lindemann M, Virchow S, Ramann F, Barsegian V, Kreuzfelder E, Siffert W, Muller N, Grosse-Wilde H. (2001): The G protein beta3 subunit 825T allele is a genetic marker for enhanced T cell response. *FEBS Lett.* 495: 82-86.
42. Luepker RV, Apple FS, Christenson RH, Crow RS, Fortmann SP, Goff D, Goldberg RJ, Hand MM, Jaffe AS, Julian DG, Levy D, Manolio T, Mendis S, Mensah G, Pajak A, Prineas RJ, Reddy KS, Roger VL, Rosamond WD, Shahar E, Sharrett AR, Sorlie P, Tunstall-Pedoe H. (2003): Case definitions for acute coronary heart disease in epidemiology and clinical research studies: a statement from the AHA Council on Epidemiology and Prevention; AHA Statistics Committee; World Heart Federation Council on Epidemiology and Prevention; the European Society of Cardiology Working Group on Epidemiology and Prevention; Centers for Disease Control and Prevention; and the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Circulation.* 108: 2543-2549.
43. Mark DB, Shaw L, Harrell FE, Jr., Hlatky MA, Lee KL, Bengtson JR, McCants CB, Califf RM, Pryor DB. (1991): Prognostic value of a treadmill exercise score in outpatients with suspected coronary artery disease. *N Engl J Med.* 325: 849-853.
44. Mark DB, Lauer MS. (2003): Exercise capacity: the prognostic variable that doesn't get enough respect. *Circulation.* 108: 1534-1536.

(Fortsetzung nächste Seite)

45. Matsunaga T, Nagasumi K, Yamamura T, Gu N, Nishikino M, Ueda Y, Moritani T, Aoki N, Tsuda K, Yasuda K. (2005): Association of C825T polymorphism of G protein beta3 subunit with the autonomic nervous system in young healthy Japanese individuals. *Am J Hypertens.* 18: 523-529.
46. Meirhaeghe A, Cottel D, Amouyel P, Dallongeville J. (2005): Lack of association between certain candidate gene polymorphisms and the metabolic syndrome. *Mol Genet Metab.* 86: 293-299.
47. Miller S. (1987): A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Research.* 16: 1215.
48. Mitchell A, Buhrmann S, Seifert A, Nurnberger J, Wenzel RR, Siffert W, Philipp T, Schafers RF. (2003): Venous response to nitroglycerin is enhanced in young, healthy carriers of the 825T allele of the G protein beta3 subunit gene (GNB3). *Clin Pharmacol Ther.* 74: 499-504.
49. Morrison AC, Doris PA, Folsom AR, Nieto FJ, Boerwinkle E. (2001): G-protein beta3 subunit and alpha-adducin polymorphisms and risk of subclinical and clinical stroke. *Stroke.* 32: 822-829.
50. Mureddu GF, de Simone G, Greco R, Rosato GF, Contaldo F. (1997): Left ventricular filling in arterial hypertension. Influence of obesity and hemodynamic and structural confounders. *Hypertension.* 29: 544-550.
51. Myers RH, Kiely DK, Cupples LA, Kannel WB. (1990): Parental history is an independent risk factor for coronary artery disease: the Framingham Study. *Am Heart J.* 120: 963-969.
52. Naber C, Hermann BL, Vietzke D, Altmann C, Haude M, Mann K, Roskopf D, Siffert W. (2000): Enhanced epinephrine-induced platelet aggregation in individuals carrying the G protein beta3 subunit 825T allele. *FEBS Lett.* 484: 199-201.
53. Naber CK, Husing J, Wolfhard U, Erbel R, Siffert W. (2000): Interaction of the ACE D allele and the GNB3 825T allele in myocardial infarction. *Hypertension.* 36: 986-989.
54. Neel JV. (1962): Diabetes mellitus: a "thrifty" genotype rendered detrimental by "progress"? *Am J Hum Genet.* 14: 353-362.
55. Neer EJ, Smith TF. (1996): G protein heterodimers: new structures propel new questions. *Cell.* 84: 175-178.
56. Neuhauser M. (2002): Exact Tests for the Analysis of Case-Control Studies of Genetic Markers. *Human Heredity.* 54: 151-156.
57. Ng LL, Sweeney FP, Siczkowski M, Davies JE, Quinn PA, Krolewski B, Krolewski AS. (1995): Na(+)-H+ antiporter phenotype, abundance, and phosphorylation of immortalized lymphoblasts from humans with hypertension. *Hypertension.* 25: 971-977.

-
58. Nürnberger J, Dammer S, Mitchell A, Siffert W, Wenzel RR, Gossel M, Philipp T, Michel MC, Schafers RF. (2003): Effect of the C825T polymorphism of the G protein beta 3 subunit on the systolic blood pressure-lowering effect of clonidine in young, healthy male subjects. *Clin Pharmacol Ther.* 74: 53-60.
 59. Nürnberger J, Dammer S, Philipp T, Wenzel RR, Schafers RF. (2003): Metabolic and haemodynamic effects of oral glucose loading in young healthy men carrying the 825T-allele of the G protein beta3 subunit. *Cardiovasc Diabetol.* 2: 7.
 60. Nürnberger J, Opazo Saez A, Mitchell A, Buhrmann S, Wenzel RR, Siffert W, Philipp T, Schafers RF. (2004): The T-allele of the C825T polymorphism is associated with higher arterial stiffness in young healthy males. *J Hum Hypertens.* 18: 267-271.
 61. Olszanecka A, Kawecka-Jaszcz K, Kuznetsova T, Stolarz K, Brand E, Ryabikov A, Herrmann SM, Nikitin Y, Staessen JA. (2003): Ambulatory blood pressure and left ventricular structure and function in relation to the G-protein beta3-subunit polymorphism C825T in White Europeans. *J Hum Hypertens.* 17: 325-332.
 62. Orlov SN, Aksentsev SL, Pokudin NI, Tremblay J, Hamet P. (1998): Na⁺/H⁺ exchange in vascular smooth muscle cells is controlled by GTP-binding proteins. *Hypertension.* 31: 259-265.
 63. Ortlepp JK, HG; Hanrath, P (1999): Polymorphismen - Genetische Risikofaktoren der koronaren Herzerkrankung? *Dtsch Med Wochenschr.* 124: 600-608.
 64. Pina IL. (1995): Guidelines for Clinical Exercise Testing Laboratories, A Statement for Healthcare Professionals From the Committee on Exercise and Cardiac Rehabilitation, American Heart Association. *Circulation.* 91: 912-921.
 65. Poch E, Gonzalez D, Gomez-Angelats E, Enjuto M, Pare JC, Rivera F, de La Sierra A. (2000): G-Protein beta(3) subunit gene variant and left ventricular hypertrophy in essential hypertension. *Hypertension.* 35: 214-218.
 66. Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, Eckel RH. (2006): Obesity and Cardiovascular Disease: Pathophysiology, Evaluation, and Effect of Weight Loss. An Update of the 1997 American Heart Association Scientific Statement on Obesity and Heart Disease From the Obesity Committee of the Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism. *Circulation.* 113: 898-918.
 67. Ridker PM, Glynn RJ, Hennekens CH. (1998): C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation.* 97: 2007-2011.
 68. Ross R. (1999): Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 340: 115-126.

-
69. Roszkopf D, Dusing R, Siffert W. (1993): Membrane sodium-proton exchange and primary hypertension. *Hypertension*. 21: 607-617.
 70. Roszkopf D, Hartung K, Hense J, Siffert W. (1995): Enhanced immunoglobulin formation of immortalized B cells from hypertensive patients. *Hypertension*. 26: 432-435.
 71. Roszkopf D, Busch S, Manthey I, Siffert W. (2000): G protein beta 3 gene: structure, promoter, and additional polymorphisms. *Hypertension*. 36: 33-41.
 72. Roszkopf D, Frey U, Eckhardt S, Schmidt S, Ritz E, Hofmann S, Jaksch M, Muller N, Husing J, Siffert W, Jocke KH. (2000): Interaction of the G protein beta 3 subunit T825 allele and the IRS-1 Arg972 variant in type 2 diabetes. *Eur J Med Res*. 5: 484-490.
 73. Ruiz-Velasco V, Ikeda SR. (2003): A splice variant of the G protein beta 3-subunit implicated in disease states does not modulate ion channels. *Physiol Genomics*. 13: 85-95.
 74. Saller B, Nemesszeghy P, Mann K, Siffert W, Roszkopf D. (2003): Glucose and lipid metabolism in young lean normotensive males with the G protein beta3 825T-allele. *Eur J Med Res*. 8: 91-97.
 75. Sartori M, Semplicini A, Siffert W, Mormino P, Mazzer A, Pegoraro F, Mos L, Winnicki M, Palatini P. (2003): G-protein beta3-subunit gene 825T allele and hypertension: a longitudinal study in young grade I hypertensives. *Hypertension*. 42: 909-914.
 76. Sasieni P. (1997): From Genotypes to Genes: Doubling the Sample Size. *Biometrics*. 53: 1253-1261.
 77. Schreieck J, Dostal S, von Beckerath N, Wacker A, Flory M, Weyerbrock S, Koch W, Schomig A, Schmitt C. (2004): C825T polymorphism of the G-protein beta3 subunit gene and atrial fibrillation: association of the TT genotype with a reduced risk for atrial fibrillation. *Am Heart J*. 148: 545-550.
 78. Schuler G, Hambrecht R, Schlierf G, Niebauer J, Hauer K, Neumann J, Hoberg E, Drinkmann A, Bacher F, Grunze M, et al. (1992): Regular physical exercise and low-fat diet. Effects on progression of coronary artery disease. *Circulation*. 86: 1-11.
 79. Schunkert H, Hense HW, Doring A, Riegger GA, Siffert W. (1998): Association between a polymorphism in the G protein beta3 subunit gene and lower renin and elevated diastolic blood pressure levels. *Hypertension*. 32: 510-513.
 80. Schwinger R. (2000): Kap. 5, Belastungsuntersuchungen. In: Erdmann E (Hrsg.): *Klinische Kardiologie. Krankheiten des Herzens, des Kreislaufs und der herznahen Gefäße*. 5. Ed. S. 61-80. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag.

81. Semplicini A, Siffert W, Sartori M, Monari A, Naber C, Frigo G, Santonastaso M, Cozzutti E, Winnicki M, Palatini P. (2001): G protein beta3 subunit gene 825T allele is associated with increased left ventricular mass in young subjects with mild hypertension. *Am J Hypertens.* 14: 1191-1195.
82. Services, U.S. (1989): Reducing the Health Consequences of Smoking: 25 Years of Progress. A Report of the Surgeon General. Vol. Publication No. 89-8411 (U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control)
http://profiles.nlm.nih.gov/NN/B/B/X/S/_/nnbbxs.pdf
83. Shaw LJ, Peterson ED, Shaw LK, Kesler KL, DeLong ER, Harrell FE, Jr., Muhlbaier LH, Mark DB. (1998): Use of a prognostic treadmill score in identifying diagnostic coronary disease subgroups. *Circulation.* 98: 1622-1630.
84. Siffert W, Roskopf D, Moritz A, Wieland T, Kaldenberg-Stasch S, Kettler N, Hartung K, Beckmann S, Jakobs KH. (1995): Enhanced G protein activation in immortalized lymphoblasts from patients with essential hypertension. *J Clin Invest.* 96: 759-766.
85. Siffert W, Roskopf D, Siffert G, Busch S, Moritz A, Erbel R, Sharma AM, Ritz E, Wichmann HE, Jakobs KH, Horsthemke B. (1998): Association of a human G-protein beta3 subunit variant with hypertension. *Nat Genet.* 18: 45-48.
86. Siffert W, Forster P, Jockel KH, Mvere DA, Brinkmann B, Naber C, Crookes R, Du PHA, Epplen JT, Fridey J, Freedman BI, Muller N, Stolke D, Sharma AM, Al Moutaery K, Grosse-Wilde H, Buerbaum B, Ehrlich T, Ahmad HR, Horsthemke B, Du Toit ED, Tiilikainen A, Ge J, Wang Y, Roskopf D, et al. (1999): Worldwide ethnic distribution of the G protein beta3 subunit 825T allele and its association with obesity in Caucasian, Chinese, and Black African individuals. *J Am Soc Nephrol.* 10: 1921-1930.
87. Siffert W, Naber C, Walla M, Ritz E. (1999): G protein beta3 subunit 825T allele and its potential association with obesity in hypertensive individuals. *J Hypertens.* 17: 1095-1098.
88. Siffert W. (2003): Effects of the G protein beta 3-subunit gene C825T polymorphism: should hypotheses regarding the molecular mechanisms underlying enhanced G protein activation be revised? Focus on "A splice variant of the G protein beta 3-subunit implicated in disease states does not modulate ion channels". *Physiol Genomics.* 13: 81-84.
89. Skaluba SJ, Litwin SE. (2004): Mechanisms of exercise intolerance: insights from tissue Doppler imaging. *Circulation.* 109: 972-977.

(Fortsetzung nächste Seite)

-
90. Snader CE, Marwick TH, Pashkow FJ, Harvey SA, Thomas JD, Lauer MS. (1997): Importance of estimated functional capacity as a predictor of all-cause mortality among patients referred for exercise thallium single-photon emission computed tomography: report of 3,400 patients from a single center. *J Am Coll Cardiol.* 30: 641-648.
 91. Stary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull W, Jr., Rosenfeld ME, Schaffer SA, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. (1994): A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb.* 14: 840-856.
 92. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W, Jr., Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. (1995): A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 15: 1512-1531.
 93. Tang Z, Tracy RP. (2001): Candidate genes and confirmed genetic polymorphisms associated with cardiovascular diseases: a tabular assessment. *J Thromb Thrombolysis.* 11: 49-81.
 94. Trappe H, Vorstand der DGK. (2000): Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie - Herz- und Kreislaufforschung. Leitlinien zur Ergometrie. *Z Kardiol.* 89: 821-837.
 95. Virchow S, Ansorge N, Roskopf D, Rubben H, Siffert W. (1999): The G protein beta3 subunit splice variant Gbeta3-s causes enhanced chemotaxis of human neutrophils in response to interleukin-8. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 360: 27-32.
 96. von Beckerath N, Schusterschitz Y, Koch W, Griesser K, Mehili J, Gorchakova O, Schomig A, Kastrati A. (2003): G protein beta 3 subunit 825T allele carriage and risk of coronary artery disease. *Atherosclerosis.* 167: 135-139.
 97. Wascher TC, Paulweber B, Malaimare L, Stadlmayr A, Iglseder B, Schmoelzer I, Renner W. (2003): Associations of a human G protein beta3 subunit dimorphism with insulin resistance and carotid atherosclerosis. *Stroke.* 34: 605-609.
 98. Wenzel RR, Siffert W, Bruck H, Philipp T, Schafers RF. (2002): Enhanced vasoconstriction to endothelin-1, angiotensin II and noradrenaline in carriers of the GNB3 825T allele in the skin microcirculation. *Pharmacogenetics.* 12: 489-495.
 99. Zeltner R, Delles C, Schneider M, Siffert W, Schmieder RE. (2001): G-protein beta(3) subunit gene (GNB3) 825T allele is associated with enhanced renal perfusion in early hypertension. *Hypertension.* 37: 882-886.

7 Anhang

7.1 Übersichten: Stichprobeneigenschaften

Übersicht 1: Eigenschaften der Population hinsichtlich Alter, Geschlecht, klinischer Symptomatik und kardialer Risikofaktoren

		Genotyp			Gesamt
		CC	CT	TT	
Alter	Mittelwert	57,75	60,74	59,84	59,37
	Standardabw.	9,70	8,77	6,95	9,08
Geschlecht	männlich	36	40	7	83
	weiblich	5	6	1	12
Größe	Mittelwert	179	177	174	178
	Standardabw.	8	8	5	8
Gewicht	Mittelwert	86	83	81	84
	Standardabw.	14	12	10	13
BMI	Mittelwert	26,68	26,26	26,65	26,48
	Standardabw.	3,71	3,25	2,32	3,37
BMI Klasse	normgewichtig	16	19	1	36
	übergewichtig	8	12	3	23
	adipös	17	15	4	36
NYHA	1	33	34	7	74
	2	7	10	1	18
	3	1	2	0	3
	4	0	0	0	0
CCS	0	27	28	6	61
	1	8	9	1	18
	2	3	7	0	10
	3	3	2	1	6
	4	0	0	0	0
art. Hypertonie ($\geq 140/90$ oder Med.)	nein	7	11	3	21
	ja	34	35	5	74
Rauchen (im letzten Jahr)	nein	34	41	5	80
	ja	7	5	3	15
Diabetes 2	bekannt	39	39	7	85
	nicht bekannt	2	7	1	10
Hyperlipo- proteinämie	nein	6	8	1	15
	ja	35	38	7	80
positive Familienanam- nese	nein	26	27	7	60
	ja	15	19	1	35

Übersicht 2: Eigenschaften der Stichprobe hinsichtlich des Belastungsverlaufs, einschließlich Leistungsparametern und Auftreten klinischer Symptomatik

		Genotyp			Gesamt
		CC	CT	TT	
Maximalbelastung (W)	Mittelwert	156	140	138	147
	Standardabw.	37	31	30	34
Dauer (s)	Mittelwert	493	395	395	437
	Standardabw.	144	133	129	145
Ruhe-HF	Mittelwert	67	71	67	69
	Standardabw.	12	14	8	13
HF bei Maximalbelastung	Mittelwert	136	135	133	135
	Standardabw.	19	25	22	22
erreichte Prozent der erwarteten altersgemäßen max. HF	Mittelwert	84	84	82	84
	Standardabw.	11	16	12	14
Ausbelastung erreicht (85%)	nein	22	21	4	47
	ja	19	25	4	48
PW 130	Mittelwert	154	129	133	140
	Standardabw.	36	37	20	37
PWC 130 ermittelbar	nein	15	17	2	34
	ja	26	29	6	61
PWC 130 (W/kg KG)	Mittelwert	1,81	1,56	1,73	1,68
	Standardabw.	0,38	0,41	0,27	0,40
syst. RR in Ruhe	Mittelwert	137	136	137	137
	Standardabw.	19	18	11	18
diast. RR in Ruhe	Mittelwert	87	84	79	84
	Standardabw.	9	9	13	10
syst. RR bei Max.-belastung	Mittelwert	207	202	205	205
	Standardabw.	29	25	17	26
diast. RR bei Max.-belastung	Mittelwert	101	100	97	100
	Standardabw.	14	14	12	14
HF 3. Erhol.-Minute	Mittelwert	86	86	92	87
	Standardabw.	19	25	13	22
syst. RR 3. Erh.-minute	Mittelwert	159	155	158	157
	Standardabw.	29	21	25	25
diast. RR 3. Erh.-Minute	Mittelwert	87	82	82	84
	Standardabw.	16	11	14	13
AP	keine	41	42	7	90
	nicht-limit.	0	3	0	3
	belastungslimit.	0	1	1	2
Ischämiebefund im EKG	nein	36	42	6	84
	ja	5	4	2	11

(Fortsetzung nächste Seite)

(Fortsetzung von Übersicht 7.1.2)

		Genotyp			Gesamt
		CC	CT	TT	
max. ST-Strecken-senkung bei Belastung (mV)	Mittelwert	-0,07	-0,06	-0,08	-0,07
	Standardabw.	0,07	0,06	0,07	0,06
METs	Mittelwert	7,0	6,7	6,8	6,8
	Standardabw.	1,3	1,3	1,8	1,3
Duke-Score (5-Jahres-Überleben)	Mittelwert	0,91	0,90	0,90	0,91
	Standardabw.	0,03	0,03	0,05	0,03

8 Abkürzungsverzeichnis

ACC/AHA	American College of Cardiology/American Heart Association
ACE	Angiotensin-Converting-Enzyme
ADP	Adenosindiphosphat
AP	Angina pectoris
AS	Aminosäure(n)
BMI	Body-mass-Index
bp	Basenpaare
C	Cytosin
C825T	Basenaustausch und Position der cDNA
CABG	Coronary Artery Bypass Graft
CCS	Canadian Cardiovascular Society
(c)DNA	(komplementäre) Desoxyribonukleinsäure
CK(-MB)	Creatinkinase(-MB-Isoform)
CSF	Colony stimulating factor
Da	Dalton
EKG	Elektrokardiogramm
Gβ ₃	G-Protein Beta3-Untereinheit
GDP, GTP	Guanosindi/triphosphat
GNB3	G-Protein Beta3 kodierendes Gen
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase

(Fortsetzung nächste Seite)

(Fortsetzung von Seite 90)

HDL, LDL	High/Low density lipoprotein
HF	Herzfrequenz
KHK	Koronare Herzkrankheit
LAH, LSB	linksanteriorer Hemiblock, Linksschenkelblock
LDH	Lactatdehydrogenase
LV	linksventrikulär
MET	Metabolisches Äquivalent
MI	Myokardinfarkt
MRT	Magnetresonanztomographie
NSTEMI, STEMI	(Non-) ST-Elevation Myocardial Infarction
NYHA	New York Heart Association
PDGF	Platelet derived growth factor
PTCA	Perkutane transluminale koronare Angioplastie
PTX	Pertussistoxin
PWC	Physical Work Capacity
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RFLP	Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus
RT-PCR	Reverse Transkriptase-Polymerasekettenreaktion
T	Thymin
TNF	Tumornekrosefaktor
TRH	Thyreotropin releasing hormone
Trop.	Troponin

9 Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Herrn Priv.-Doz. Dr. Heinrich Wieneke für die Überlassung des Themas, seine ständige freundliche Gesprächsbereitschaft und die hervorragende und intensive Betreuung dieser Doktorarbeit bedanken.

Herrn Prof. Dr. Raimund Erbel, Direktor der Klinik für Kardiologie, danke ich, dass er mir ermöglichte, das Archiv seiner Klinik jederzeit zu nutzen, und für sein Interesse an meiner Arbeit.

Herr Prof. Dr. Winfried Siffert, Direktor des Instituts für Pharmakogenetik, führte freundlicherweise die Genotypisierungen an seinem Institut durch; ihm möchte ich sehr für die Unterstützung dieser Arbeit danken.

Herrn Prof. Dr. habil. Markus Neuhäuser vom Fachbereich Mathematik und Technik der Fachhochschule Koblenz/Remagen danke ich für die Beratung zu statistischen Testverfahren und für seine freundlichen Erläuterungen zu den mathematischen Aspekten meiner Arbeit.

Herrn Burkhard als Archivar der Kardiologie danke ich für die Unterstützung meiner Recherchen. Frau Pawlik vom Institut für Pathologie der Heinrich Heine-Universität Düsseldorf wies mich freundlicherweise in die Technik der Polymerase-Kettenreaktion ein, dem Team des Labors für Zytologie dort verdanke ich hilfreiche Erklärungen zur DNA-Gewinnung und -Sequenzierung.

Großer Dank gebührt Dr. Georg Feldmann, der mir als Freund seine Erfahrung in Sachen Dissertation zur Verfügung gestellt hat.

Ein herzlicher Dank geht an Vera Lange und Christian Fusten samt ihren Familien, deren Freundschaft mir eine große Unterstützung war. Auch die Durchsicht des Manuskripts haben Vera Lange, Gisela Fusten und Georg Feldmann übernommen, für ihre Sorgfalt und Mühe bin ich sehr dankbar. Einen besonderen Dank an Monika Topoll für das richtige Wort im richtigen Moment.

Ganz herzlich möchte ich mich schließlich bei meinen Eltern und bei meiner Familie bedanken, die mich immer liebevoll unterstützt haben.

10 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Daniela Gabriele Brehm
Geburtsdatum	02.05.1976
Geburtsort/Wohnort	Krefeld
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	ledig

Schulbildung

1982-1986	Katholische Grundschule Sollbrüggenstraße, Krefeld
1986-1995	Gymnasium Fabritianum, Krefeld
1995	Allgemeine Hochschulreife

Medizinstudium

1995-1998	Universität des Saarlandes, Medizinische Fakultät Homburg (Saar)
1996-2002	Stipendiatin der Studienstiftung des deutschen Volkes
1998-1999	Fortsetzung des Studiums, RWTH Aachen
1999-2002	Fortsetzung des Studiums, Universität Gesamthochschule Essen
2001-2002	Praktisches Jahr Hôpital S. Nicolas Eupen, Belgien, Chirurgie und Innere Medizin Rheinische Kliniken Essen, Psychosomatik und Psychotherapie
2002	3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Ärztliche Tätigkeit

1/2003-8/2004	Ärztin im Praktikum, danach Assistenzärztin, in der Abteilung für Chirurgie, St. Josefshospital Uerdingen, Krefeld
7/2004	Approbation als Ärztin
9/2004-8/2005	Assistenzärztin in der Abteilung für Innere Medizin, Antoniuszentrum Tönisvorst
9/2005-12/2005	Assistenzärztin in der Abteilung für Chirurgie, St. Josefshospital Uerdingen, Krefeld
seit 1/2006	Assistenzärztin am Institut für Pathologie, Bethesda-Johanniter Klinikum, Duisburg